

Aus dem Deutschen Herzzentrum Berlin
STIFTUNG BÜRGERLICHEN RECHTS

Direktor: Prof. Dr. med. R. Hetzer



DISSERTATION

„Histomorphometrische Untersuchungen myokardialer Blutgefäßveränderungen nach Herztransplantation.“

(Ein Beitrag zur Pathogenese der Transplantatvaskulopathie.)

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae
(Dr. med.)

Vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité der
Humboldt-Universität zu Berlin

von
Frau Nicola E. Hiemann
geb. am 25. Juli 1973 in Berlin

Dekan: Prof. Dr. med. M. Dietel

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. R. Meyer
2. Prof. Dr. med. H. Goos
3. Prof. Dr. med. H. P. Schultheiss

eingereicht: 20. März 1998

Datum der Promotion: 14. Dezember 1998

Zusammenfassung

Anhand von immunhistochemischen Färbemethoden wurde die Expression von CD 31 (immunhistochemischer Marker für Endothelzellen) und α -Aktin (immunhistochemischer Marker für glatte Muskelzellen) auf Zellen der intramyokardialen Blutgefäße herztransplanterter Patienten histomorphometrisch ausgewertet. In die Bewertung der myokardialen Strukturen ging auch die Untersuchung der jeweiligen zugehörigen HE-Färbungen mit ein.

Ziel dieser Untersuchungen war die Beurteilung von qualitativen und quantitativen Unterschieden dieser Marker während eines Untersuchungszeitraumes von 14 Monaten nach Herztransplantation (HTx) bei Patienten mit einer angiographisch diagnostizierten Transplantatvaskulopathie (TVP) mit Patienten ohne einer prä- bzw. postmortem diagnostizierten TVP.

Der Einsatz dieser Immunmarker richtete sich hierbei auf die selektive Darstellung der terminalen Strombahn mit der Fragestellung, ob ein intramyokardiales morphologisches Korrelat zu der TVP der epikardialen Blutgefäße existiert und ob die histomorphometrische Auswertung der bewerteten Strukturen eine mögliche Frühdiagnose der TVP nach HTx zulässt. Des weiteren sollte eine mögliche Assoziation der TVP mit den demographischen Charakteristika sowie der Anzahl und dem Schweregrad der Rejektionsepisoden der untersuchten Patienten überprüft werden.

Als Basis dienten dabei in Paraffin eingebettete rechtsventrikuläre Rejektionskontrollbiopsien, die im Rahmen der routinemäßig durchgeführten Abstoßungsdiagnostik entnommen wurden. Nach morphologischer Bewertung dieser Schnitte im Hinblick auf die Existenz und den Schweregrad einer Abstoßungsreaktion wurden diese immunhistochemisch aufbereitet und anschließend quantitativ ausgewertet.

Im Rahmen dieser Arbeit weist die quantitativ-histomorphometrische Erfassung intramyokardialer Blutgefäße in rechtsventrikulären Rejektionskontrollbiopsien auf die mögliche Frühdiagnose einer TVP nach HTx hin. Dieses Verfahren könnte die zur Zeit verwendeten diagnostischen Methoden ergänzen. Jedoch sind noch weitere prospektive klinische Studien für die Validierung dieser Ergebnisse notwendig.

Schlagwörter:

Herztransplantation, Transplantatvaskulopathie, glatte Muskelzellen, Frühdiagnose

Abstract

In this study, immunohistochemical and histomorphometric investigations were performed in order to investigate the expression of CD 31 (immunohistochemical marker for endothelial cells) and α -Aktin (immunohistochemical marker for smooth muscle cells) on cells of intramyocardial blood vessels in heart transplant (HTx) patients. The evaluation of myocardial structures also implicated the investigation of the corresponding histological H & E stainings.

The aim of this study was to ascertain whether HTx patients with angiographic evidence of graft vessel disease (GVD) showed different qualitative and quantitative expression of the above mentioned immunomarkers than HTx patients with no angiographic or postmortem signs of this phenomenon. The investigation time included the first 14 months after HTx.

The use of these immunomarkers made possible the selective representation of the terminal vascular system to answer the question, as to whether there existed an intramyocardial morphological correlate to GVD of epicardial coronary arteries and whether histomorphometric evaluation of small vessels permits early diagnosis of GVD after HTx. In addition, demographic data, as well the number and grade of rejection episodes of the studied patients, were reviewed in order to ascertain whether there might be an association of these characteristics with GVD.

The material studied consisted of paraffin-embedded right ventricular rejection control samples from routine postoperative diagnostic management, which were used to reveal acute rejection episodes. After morphological evaluation of histological slices with regard to the appearance and severity of acute rejection, immunohistochemical staining was performed and finally a quantitative investigation was done.

According to the results of this study, quantitative histomorphometric investigations of intramyocardial blood vessels in right ventricular rejection control samples permit the early diagnosis of GVD after HTx and completes the present diagnostic tools. But further prospective clinical studies are necessary to confirm these results.

key words:

heart transplantation, graft vessel disease, smooth muscle cells, early diagnosis

Inhaltsverzeichnis:

I.	Abkürzungsverzeichnis	1
II.	Tabellenverzeichnis	
Tabelle 1:	Morphologische Befunde bei transplantatbedingten Blutgefäßveränderungen	7
Tabelle 2:	Klassifikation der Abstoßungsgrade nach der International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT) (9)	11
Tabelle 3:	Klassifikation der vaskulären Reaktion (nach Prof. Dr. R. Meyer, Arbeitsgruppe Herzpathologie, Deutsches Herzzentrum Berlin)	12
Tabelle 4a:	Demographische Daten der untersuchten Populationen	20
Tabelle 4b:	Ergebnisse der statistischen Signifikanzprüfung der demographischen Daten	20
Tabelle 5a:	Rejektion – Gesamtanzahl der jeweiligen Grade in beiden Gruppen	21
Tabelle 5b:	Rejektion – Anzahl der Abstoßungen je Patient	21
Tabelle 6:	Rejektionsgrade in Abhängigkeit von der Zeit nach Herztransplantation	21
Tabelle 7:	Gruppierung der Rejektionsgrade in Abhängigkeit von der Zeit nach Herztransplantation	22
Tabelle 8:	Darstellung der vaskulären Reaktion in Abhängigkeit von der Zeit nach Herztransplantation	22
Tabelle 9:	Morphometrische Untersuchungsergebnisse der CD 31-abhängigen morphometrischen Parameter in Bezug zur Rejektion	23
Tabelle 10:	Spearman's Korrelationskoeffizient: ISHLT und CD 31-abhängige morphometrische Parameter	23
Tabelle 11:	Spearman's Korrelationskoeffizient: Rejektionsgruppen und CD 31-abhängige morphometrische Parameter	23
Tabelle 12:	Spearman's Korrelationskoeffizient: Endothelzellschwellung und CD 31-abhängige morphometrische Parameter	24
Tabelle 13a:	Morphometrische Untersuchungsergebnisse der Anschnittdichten CD 31-positiver Blutgefäße	25
Tabelle 13b:	Morphometrische Untersuchungsergebnisse der Anschnittdichten der Kapillaren	25
Tabelle 14:	Morphometrische Untersuchungsergebnisse bezüglich der Quotienten aus $NA_{\text{Kapillaren}} / \text{Arteriolen}$	27
Tabelle 15:	Morphometrische Untersuchungsergebnisse der α -Aktin-abhängigen morphometrischen Parameter in Bezug zur Rejektion	28
Tabelle 16:	Spearman's Korrelationskoeffizient: ISHLT und α -Aktin-abhängige morphometrische Parameter	28
Tabelle 17:	Spearman's Korrelationskoeffizient: Rejektionsgruppen und α -Aktin-abhängige morphometrische Parameter	29
Tabelle 18:	Spearman's Korrelationskoeffizient: Endothelzellschwellung und α -Aktin-abhängige morphometrische Parameter	29
Tabelle 19:	Spearman's Korrelationskoeffizient: Wandverdickung und α -Aktin-abhängige morphometrische Parameter	30
Tabelle 20:	Morphometrische Untersuchungsergebnisse der Anschnittdichten der α -Aktin-positiven Blutgefäße	31
Tabelle 21:	Friedmann-Test: Zeitabhängigkeit der Zunahme der α -Aktin-abhängigen morphometrischen Parameter bei TVP- und Kontrollpatienten	32
Tabelle 22:	Wilcoxon-Test: Vergleich der Anzahl α -Aktin-positiver Blutgefäße in Abhängigkeit vom Beobachtungsmonat bei TVP- und Kontrollpatienten	32
Tabelle 23a:	Spearman's Korrelationskoeffizient: Ergebnisse der Anschnittdichten der α -Aktin-positiven Blutgefäße und der CD 31-positiven Blutgefäße	33
Tabelle 23b:	Spearman's Korrelationskoeffizient: Ergebnisse der Anschnittdichten der α -Aktin-positiven Blutgefäße und der CD 31-abhängigen morphometrischen Parameter	33
Tabelle 24a:	Morphometrische Untersuchungsergebnisse der Flächen der Herzmuskelzellen	34

Fortsetzung Inhaltsverzeichnis:

Tabelle 24b:	Morphometrische Untersuchungsergebnisse der Anschnittdichten der Herzmuskelzellen	34
Tabelle 24c:	Morphometrische Untersuchungsergebnisse bezüglich der Hypertrophie der Herzmuskelzellen	35

III. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Vergleich der Anschnittdichten der CD 31-positiven Blutgefäße bei TVP- und Kontrollpatienten	26
Abbildung 2:	Vergleich der Anschnittdichten der Kapillaren bei TVP- und Kontrollpatienten	26
Abbildung 3:	Vergleich der Quotienten aus $NA_{\text{Kapillaren/Arteriolen}}$ bei TVP- und Kontrollpatienten	27
Abbildung 4:	Darstellung der Anschnittdichten der α -Aktin-positiven Blutgefäße aller beobachteten Patienten	30
Abbildung 5:	Vergleich der Anschnittdichten der α -Aktin-positiven Blutgefäße bei TVP- und Kontrollpatienten	31
Abbildung 6:	Histologischer Schnitt einer rechtsventrikulären Herzmuskelbiopsie in HE-Färbung	35
Abbildung 7:	Immunhistochemische Färbung einer rechtsventrikulären Herzmuskelbiopsie mit CD 31	36
Abbildung 8:	Immunhistochemische Färbung einer rechtsventrikulären Herzmuskelbiopsie eines TVP-Patienten mit α -Aktin	36
Abbildung 9:	Immunhistochemische Färbung einer rechtsventrikulären Herzmuskelbiopsie eines Kontrollpatienten mit α -Aktin	37
Abbildung 10:	Darstellung des verwendeten NetZRasters in einer rechtsventrikulären Herzmuskelbiopsie (α -Aktin)	37
Abbildung 11:	Mögliche Pathogenese der TVP mit mikrovaskulärer Beteiligung	45

Fortsetzung Inhaltsverzeichnis:

1.	Einleitung	2	
2.	Die Transplantatvaskulopathie ein Überblick		
2.1.	Begriffsbestimmung	3	
2.2.	Morphologische Befunde bei transplantatbedingten Blutgefäßveränderungen		
2.2.1	Große epikardiale Blutgefäße	5	
2.2.2.	Kleine intramurale Blutgefäße	6	
2.2.3.	Kapillaren	6	
2.2.4.	Venen	6	
2.3.	Ätiopathogenese transplantatbedingter Blutgefäßveränderungen	8	
2.4.	Diagnose transplantatbedingter Blutgefäßveränderungen	10	
2.5.	Therapie transplantatbedingter Blutgefäßveränderungen	12	
3.	Ziel der Arbeit und Aufgabenstellung	14	
4.	Material	15	
5.	Methoden		
5.1.	Immunhistochemische Aufbereitung der Proben	16	
5.2.	Histomorphometrie		
5.2.1.	Untersuchungsbedingungen	17	
5.2.2.	Berechnung einzelner Parameter	17	
5.3.	Statistik	19	
6.	Ergebnisse		
6.1.	Charakterisierung der Patientenpopulationen	20	
6.2.	Auswertung der Rejektionsfrequenzen	21	
6.3.	CD 31-positive Blutgefäße	23	
6.4.	α-Aktin-positive Blutgefäße	28	
6.5.	Hämalaun Eosin-Färbungen	34	
7.	Diskussion		
7.1.	Diskussion von Material und Methodik	38	
7.2.	Diskussion der Ergebnisse	41	
8.	Schlußfolgerung	46	
9.	Zusammenfassung	47	
10.	Literaturverzeichnis	48	
11.	Anlagen	55	
Anlage 1:	Biopsieliste:	TVP-Gruppe	55
Anlage 2:	Biopsieliste:	Kontrollgruppe	58
Anlage 3:	Demographische Daten:	TVP-Gruppe	63
Anlage 3a:	Spenderinformationen:	TVP-Gruppe	65
Anlage 4:	Demographische Daten:	Kontrollgruppe	66
Anlage 4a:	Spenderinformationen:	Kontrollgruppe	68
Anlage 5:	Tripelimmunsuppression:	TVP-Gruppe	69
Anlage 6:	Tripelimmunsuppression:	Kontrollgruppe	70

I. Abkürzungsverzeichnis

A	Fläche
ABC	Avidin-Biotin-Komplex
Ag	Antigen
Ak	Antikörper
α -Aktin	Ak, der gegen Oberflächenantigene von glatten Muskelzellen gerichtet ist
APES	3- Aktinopropyltriethoxysilene
BG	Blutgefäß
CMV	Zytomegalievirus
CD 31	Ak, der gegen Oberflächenantigene von Endothelzellen gerichtet ist
dKMP	dilatative Kardiomyopathie
EMB	Endomyokardbiopsie
EZ	Endothelzelle
FGF	Fibroblast Growth Factor
GF	Gesichtsfeld
HE	Hämalaun Eosin
HELP	Heparin-mediated Extracorporal LDL-Fibrinogen Precipitation
HF	Hypertrophiefaktor
HLA	Human Leukocyte Antigen
HMZ	Herzmuskelzelle
HTx	Herztransplantation
ICAM	Intercellular Adhesion Molecule
IMEG	intramyokardiales Elektrogramm
IVUS	intravaskulärer Ultraschall
KHK	koronare Herzkrankheit
LAB	Labeled-Avidin-Biotin-Complex
LDL	Low Density Lipoproteine
N	Anzahl
NA	Number per Area (Anschnittdichte)
NC	Nucleus
PDGF	Plateled Derived Growth Factor
PECAM-1	entspricht CD 31
PTCA	perkutane transluminale Koronarangioplastie
RA	Anteil
RTFG	relative Testfeldgröße
sd	Standardabweichung
SMCs	Smooth Muscle Cells, glatte Muskelzellen
SP	Schnittpunkt
TF	Testfeld
TGF	Transforming Growth Factor
TMLR	transmyokardiale Laserrevaskularisierung
TNF- α	Tumor Necrosis Factor- α
tPA	tissue Plasminogen Activator
TRIS	Trihydroxymethylaminomethanol
TVP	Transplantatvaskulopathie
VCAM	Vascular Adhesion Molecule
V_v	Volumendichte
\bar{x}	Mittelwert
ZP	Zytoplasma

1. Einleitung

Die Herztransplantation ist ein weltweit anerkanntes Verfahren zur Behandlung unterschiedlicher Formen der terminalen Herzinsuffizienz, die mit anderen operativen und konservativen Methoden nicht beherrschbar sind. Die Hauptindikationen umfassen vor allem die dilatative Kardiomyopathie und Endstadien der koronaren Herzkrankheit. Obwohl die operative Technik der Herztransplantation weitgehend ausgereift ist, die Auswahl potentieller Spender sehr sorgfältig erfolgt und die prä- und postoperative Betreuung der Empfänger verbessert werden konnte, verbleiben Früh- und Spätkomplikationen, die das Ergebnis dieses Eingriffs einschränken können (36, 53, 78, 114).

Während in der frühen Phase nach Herztransplantation Komplikationen wie Infektion und Rejektion dominieren, wird das Langzeitergebnis unter anderem durch die Folgen der Auseinandersetzung des Empfängers mit dem fremden Organ und den Nebenwirkungen des immunsuppressiven Regimens bestimmt.

Nach jeder Herztransplantation finden im Transplantat unter anderem Veränderungen an arteriellen und venösen Blutgefäßen unterschiedlichen Kalibers statt, die zu einer hämodynamisch bedeutsamen Einengung der Gefäßlumina führen können. Das Organ verliert dadurch die Fähigkeit, sich an unterschiedliche funktionelle Anforderungen zu adaptieren. Aufgrund der Denervierung des Transplantates sind diese vaskulären Veränderungen „klinisch stumm“, so daß kongestives Herzversagen, ventrikuläre Arrhythmien und der plötzliche Herztod oft die ersten und einzigen Manifestationszeichen einer letztendlich ischämischen Erkrankung des Transplantates darstellen. Aus diesem Grunde ist es erforderlich, im postoperativen Betreuungsmanagement angiographische und auch Untersuchungen mittels des intravaskulären Ultraschalls vorzusehen. Das Dilemma besteht aber unter anderem darin, daß gegenwärtig keine klinisch relevanten Methoden bekannt sind, um Veränderungen kleinkalibriger Blutgefäße zu erfassen und ihre Auswirkung auf das transplantierte Organ zu bestimmen.

Das individuelle Betreuungsmanagement herztransplantierter Patienten könnte deshalb durch die Einführung einer Untersuchungsmethode entscheidend verbessert werden, welche die frühzeitige Diagnose vaskulärer Veränderungen gewährleistet. Ein solches Verfahren steht jedoch zur Zeit noch nicht zur Verfügung.

Mit den regelmäßig durchzuführenden Rejektionskontrollbiopsien ist aber andererseits Material vorhanden, das gestattet, Veränderungen im Bereich der kleinen Blutgefäße nachzuweisen, die ihre funktionelle Kapazität beschränken.

2. Die Transplantatvaskulopathie – ein Überblick

2.1. Begriffsbestimmung

Während Infektion und Rejektion die Hauptkomplikationen während des ersten Jahres nach HTx darstellen, ist neben der Gefahr der Bildung maligner Tumoren das Auftreten transplantatbedingter Blutgefäßveränderungen einer der limitierenden Faktoren für das Langzeitüberleben nach HTx (12, 36, 53, 78, 114, 116). Ihre Erstbeschreibungen gehen auf die Jahre 1968 (106) und 1969 (84) zurück.

Die Inzidenz von transplantatbedingten Blutgefäßveränderungen wird anhand koronarangiographischer Befunde auf 11% im ersten Jahr, 22% im zweiten Jahr und 45% im vierten Jahr nach HTx geschätzt (21). Die Ergebnisse des intravaskulären Ultraschalls (IVUS), der ebenfalls als diagnostisches Instrument eingesetzt wird, lassen vermuten, daß ihre Inzidenz mit 68% nach zwei Monaten und 72% jenseits des ersten Jahres nach HTx sogar noch höher einzustufen ist (58).

Eine Alters- (10, 12, 70, 94) und Geschlechtsinzidenz (10, 70, 94) ist nicht bekannt. Ebenso scheinen andere demographische Charakteristika wie die zur HTx führende Grunderkrankung und das Schema der Immunsuppression keinen Einfluß auf ihre Entwicklung zu besitzen (10, 94). Es bestehen Hinweise auf eine mögliche Assoziation mit einem erhöhten Spenderalter (21, 38), obwohl diese Beobachtung von anderen Arbeitsgruppen nicht belegt werden kann (94, 96). Musci et al. (80) können keinen Einfluß unterschiedlicher Kardioplegielösungen (Universität von Wisconsin und die Bretschneiderlösung) auf die spätere Entwicklung vaskulärer Veränderungen nachweisen, solange die Ischämiezeit des Transplantates eine Zeitdauer von 4 Stunden nicht überschreitet.

Diese transplantatbedingten Blutgefäßveränderungen sind für 50% der Retransplantationsfälle (12) ursächlich verantwortlich.

Die Problematik der Einschätzung der Genese, des Erscheinungsbildes und der Folgen transplantatbedingter Blutgefäßveränderungen äußert sich unter anderem in der sehr unterschiedlichen Benennung dieser Erscheinung. Einige Forschungsgruppen sind der Auffassung, daß es sich hierbei um Veränderungen in den großen, zumeist extramural gelegenen Ästen der Koronararterien handelt. Diese stellen sich als diffuse intimale Verdickungen dar und verursachen letztendlich über eine Stenose eine Okklusion der Gefäßlumina. Dabei werden folgende Begriffe gewählt: Aziz et al. (5) benennen diese Veränderungen „Transplant Arterial Vasculopathy“, Johnson et al. (57), Kobashiwaga et al. (60), Tuzcu et al. (107) und Yeung et al. (117) bezeichnen sie als „Transplant Coronary Artery Disease“, Mehra et al. (75) wählen den Begriff „Cardiac Allograft Vasculopathy“, Valantine et al. (110) benutzen den Titel „Allograft Vascular Disease“ und Hauptmann et al. (48) benennen diese „Graft Arteriosclerosis“. Zusätzlich zu den eben genannten Veränderungen betonen manche Autoren den Befall des gesamten arteriellen Koronargefäßstammes bis in die kleinen intramuralen Äste. Hierfür werden folgende Bezeichnungen verwendet: Billingham (11, 12) wählt die Begriffe „Graft Coronary Disease“ sowie „Cardiac Transplant Atherosclerosis“ (10). Die Proliferation von SMCs in Assoziation mit dem Auftreten von transplantatbedingten Blutgefäßveränderungen wird durch folgende Begriffe beschrieben: Rabinovitch et al. (89) bezeichnen diese „Cardiac Allograft Vascular Disease“, Costanzo (20) und Weis (114) benennen sie „Cardiac Allograft Vasculopathy“ und Neish et al. (83) wählen die Bezeichnung „Cardiac Transplant-Associated Coronary Arteriosclerosis“. Russell (95) berichtet von diffusen, konzentrischen und hyperzellulären Verdickungen der Arterien mit Beteiligung eines großen Spektrums an Gefäßen im Spenderherzen und betitelt das Phänomen als „Transplant Arteriosclerosis“. Unter „Graft Vascular Disease“ wird von Gibbons (43) die Balance zwischen der Antwort auf einen immunologischen Konflikt und der Reaktion des Organismus in Form des vaskulären Remodelings postuliert.

Dieses „Durcheinander“ bei der Bezeichnung vaskulärer Veränderungen nach HTx und die zum Teil synonym verwendeten Begriffe bei unterschiedlichem morphologischen Substrat spiegelt deutlich die eigentliche Unwissenheit über die pathogenetischen Vorgänge an den Blutgefäßen nach HTx wider.

Obwohl zahlreiche Versuche unternommen wurden, die morphologische Basis dieser transplantatbedingten Blutgefäßveränderungen zu definieren (8, 10, 12, 13, 37, 55, 56, 59, 61, 83, 107, 109, 114) und ihre Pathogenese zu klären (4, 6, 7, 8, 21, 23, 28, 33, 35, 43, 45, 52, 54, 60, 62, 63, 65, 85, 89, 90, 95, 98, 108, 114, 116), bleiben grundsätzliche Fragen noch ungeklärt. Zu diesen Fragen zählen:

1. Was sind transplantatbedingte Blutgefäßveränderungen ?
2. Beschränken sich transplantatbedingte Blutgefäßveränderungen nur auf die großen epikardialen Blutgefäße ?
3. Sind die Veränderungen der großen epikardialen Blutgefäße als Arteriosklerose, die in nichttransplantierten Herzen beobachtbar ist, zu betrachten, die entweder importiert oder neu entstanden ist ?
4. Entstehen diese Veränderungen unabhängig von einer Arteriosklerose ?
5. Sind transplantatbedingte Blutgefäßveränderungen eine spezifische Form der Arteriosklerose und in welchem Rahmen sind an diesem Prozeß SMCs beteiligt ?
6. Was bildet den Stimulus dieser Veränderungen und wodurch wird er aufrechterhalten ?
7. Stellen transplantatbedingte Blutgefäßveränderungen eine „chronische Rejektion“ dar, die von einer Arteriosklerose überdeckt werden ?

Der oben genannte Begriff „importiert“ kann verschiedene Bedeutungen beinhalten. Daher soll er an dieser Stelle noch durch einige Überlegungen ergänzt werden:

1. Sofern eine KHK die Indikation für eine HTx darstellt, könnte sich eine „arteriosklerotische Gesamtsituation“ der Koronararterien im Transplantat „bemächtigen“. Dieser Vorgang ist als „importiert“ zu bezeichnen.
2. Im intravaskulären Ultraschall (IVUS) werden kalzifizierte Plaques, die früh nach HTx nachgewiesen werden, als von Spender importiert betrachtet.
3. Das Transplantat kann aber auch die Entstehung dieser Blutgefäßveränderungen „provozieren“ oder beschleunigen.

Das Auftreten einer koronaren Herzkrankheit (KHK) in nichttransplantierten Herzen kann mit verschiedenen Risikofaktoren korreliert werden. Diese Faktoren werden unterteilt in solche, die therapeutisch nicht beeinflusst werden können, wie familiäre Disposition (Infarkte in der Familienanamnese), Lebensalter und männliches Geschlecht. Zu den beeinflussbaren Risikofaktoren zählen Fettstoffwechselstörungen (Erhöhung des Gesamtcholesterins und des LDL-Cholesterins sowie eine Erniedrigung des HDL-Cholesterins), Hypertonus, Diabetes mellitus, das metabolische Syndrom (Stammfettsucht, Insulinresistenz und Hyperinsulinämie sowie deren assoziierte Erkrankungen), Hyperfibrinogenämie ($> 300 \text{ mg/dl}$) und das Zigarettenrauchen. Unter den Risikofaktoren 2. Ordnung sind außerdem Bewegungsmangel, negativer Streß und die Typ-A-Persönlichkeitsstruktur zu nennen (49). Eine Korrelation der Blutgefäßveränderungen im Transplantat mit dem Plasmalipidspiegel, Hypertonus, Diabetes mellitus, Lebensalter und Geschlecht wird von Mangiavacchi et al. (70) verneint. Auf das Fehlen einer Assoziation zwischen der TVP und einem erhöhten individuellen Lipidprofil (85, 88) wird auch an anderer Stelle verwiesen. Jedoch können weitere Arbeitsgruppen eine signifikante Korrelation zwischen ihrem Auftreten und dem gleichzeitigen Bestehen eines erhöhten Cholesterolblutspiegels (110, 116) sowie der postoperativen Manifestation eines Hypertonus zeigen (90). Die Progression einer TVP kann durch eine Erniedrigung des Plasma-LDL-Spiegels (76, 115) bzw. durch die medikamentöse Beeinflussung eines bestehenden Hypertonus (42) verlangsamt werden. Jedoch ist es bisher nicht möglich, den Großteil der Patienten mit transplantatbedingten Blutgefäßveränderungen mit einer PTCA oder der Schaffung eines aortokoronaren Venenbypasses erfolgreich zu behandeln (10). Eine Affektion der kleinen intramuralen Blutgefäße ließe jedoch die Erfolglosigkeit der sich an der Arteriosklerose orientierenden konventionellen Therapieformen transplantatbedingter Gefäßveränderungen erklären. Hieraus ergeben sich folgende Fragen:

1. Besteht ein innerer Zusammenhang zwischen der Manifestation vaskulärer Veränderungen an den großen extramuralen Koronararterien und den kleinen intramuralen Ästen oder ist ein solcher Zusammenhang auszuschließen ?
2. Folgt die intramurale Manifestationsart dieser transplantatbedingten Gefäßveränderungen deren extramuraler Manifestation oder umgekehrt ?

Aufgrund der Erfahrungen im Deutschen Herzzentrum Berlin und den Verwirrung stiftenden Bezeichnungen in der Literatur wird dieses Phänomen als **Transplantatvaskulopathie (TVP)** bezeichnet und wie folgt definiert:

Die TVP stellt sich als ein Prozeß dar, der mit proliferativen Prozessen der glatten Muskelzellen in allen Gefäßabschnitten beginnt, sich regional unterschiedlich entwickelt und durch Bilder klassischer Arterienveränderungen maskiert werden kann und zur Einschränkung der Koronarreserve führt.

Die Zweckmäßigkeit und wissenschaftliche Richtigkeit dieser Definition soll im Rahmen der vorliegenden Arbeit überprüft und bestätigt werden.

2.2. Morphologische Befunde bei transplantatbedingten Blutgefäßveränderungen

2.2.1. Große epikardiale Koronararterien

Die TVP ist als eine Erkrankung mit sehr heterogener Verteilung der befallenen Blutgefäße, die zum Teil mit unterschiedlichen diagnostischen Instrumenten in verschiedenen Lokalisationen des Gefäßbaumes nachgewiesen werden kann. In der Diagnose der TVP der großen epikardialen Gefäße stehen die Koronarangiographie und der intravaskuläre Ultraschall (IVUS) zur Verfügung.

Anhand der selektiven Koronarangiographie läßt sich die akzelerierte TVP durch eine diffuse Stenosierung und Okklusion der sekundären und tertiären Blutgefäße charakterisieren (37, 55). Als Ursache des lumenverengenden Prozesses wird eine Proliferation der Intima angenommen (37, 53, 55). Eine Proliferation sowohl der Intima als auch der Media wird in der Literatur nicht beschrieben. Gao et al. (37) können zeigen, daß im Gegensatz zu der KHK, bei der die Läsionen des Typ A (diskrete tubuläre Stenosen) v.a. in den primären und sekundären Ästen des Koronargefäßbaumes dominieren, die TVP eine Dominanz der Typ B₁-, B₂- und C-Läsionen in Form von diffusen, konzentrischen Konstriktionen aufweist. Sie wird hier als eine Mischung aus atheromatösen Läsionen und transplantatspezifischen distalen Veränderungen bewertet (37, 55). Die Ausbildung von Kollateralen als Kompensationsmechanismus bleibt jedoch aus (37). Das Bild der TVP ähnelt dem der Arteriosklerose (37, 55, 107), wobei offen bleiben muß, ob es sich um eine Koronararteriosklerose handelt oder ob sich diese dort zusätzlich manifestiert.

Mit Hilfe des intravaskulären Ultraschalls (IVUS) lassen sich frühe, vermutlich von Spender importierte, eher exzentrische Läsionen (107, 109) von späten diffusen intimalen Verdickungen unterscheiden (107). Tuzcu et al. (107) vertreten die Hypothese, daß es sich bei den fokalen, nichtkonzentrischen Plaques in proximalen Segmenten und Bifurkationen um präexistente, d.h. vom Spender stammende Stenosen handelt. Die diffusen, konzentrischen Veränderungen beschreiben sie (107) vor allem in den mittleren und distalen Segmenten und werten diese als möglichen Ausdruck eines immunvermittelten Krankheitsgeschehens. Die Beurteilung der distalen Äste der Koronararterien bedarf eines Ultraschallkatheters mit einem Durchmesser von 3 French (1 French entspricht 1/3 mm), da diesen Blutgefäße mit einem Lumen von 2 mm zugänglich sind. Da jedoch in dieser Studie ein 3,5 French-Katheter benutzt wurde, sind Aussagen über die distalen Blutgefäße nur begrenzt möglich. Daneben ist eine hohe Variabilität der TVP zwischen den verschiedenen Koronararterien und deren Segmenten mit dieser Nachweismethode darstellbar (59). Klauss et al. (59) weisen darauf hin, daß die TVP in ihrer Studie bevorzugt die proximalen Arteriensegmente betrifft und betonen, daß die heterogene Verteilung der TVP im Koronargefäßbaum bei der Anwendung einer IVUS-Klassifikation berücksichtigt werden sollte.

Die Manifestation einer TVP kann sich in einer multiplen Stenosierung der extramuralen Koronararterien manifestieren. Sie stellt sich sowohl im IVUS (18, 109, 114) als auch in der

Koronarangiographie (37, 114) als zeitabhängiger Prozeß dar, der mit der Zeit nach HTx voranschreitet und spezifisch für Allotransplantate ist (114).

2.2.2. Kleine intramurale Koronararterien

Eine TVP ist auch ohne Stenosierung der epikardialen Gefäße möglich. Konzentrische Läsionen entziehen sich der Koronarangiographie. Daher können sich Veränderungen in den kleinen Arterien und Arteriolen manifestieren und diese vor dem Befall der großen epikardialen Gefäße verschließen (10, 12, 83). Gao et al. (37) schließen diese Möglichkeit jedoch aus.

Die Histopathologie (10, 12) der kleinen Blutgefäße zeichnet sich durch diffuse, konzentrische Läsionen aus, die sich über die gesamte Länge des Gefäßsystems erstrecken können. Je nach Größe der betroffenen Blutgefäße bilden sich Einzelzellnekrosen, Gruppenzellnekrosen oder größere ischämische Infarkte aus (13, 83). Innerhalb der intimalen Verdickungen können hauptsächlich vaskuläre SMCs und Makrophagen dargestellt werden (10, 12, 13, 18, 53, 56, 83). Anhand von Tiermodellen wird vermutet, daß die Media die Quelle der SMCs bildet, die sich innerhalb der Intima nachweisen lassen (5). Andererseits finden sich trotz intensiver Literaturrecherche keine Hinweise auf ortsständige SMCs in der Intima. Ein Befall der Media wird von Billingham (10) und Pucci et al. (88) verneint. Sie wird sogar in manchen Berichten als verdünnt beschrieben (3, 13, 24, 114). Die selektive Verdickung der Media bzw. eine Kombination aus Verdickung der Intima und Media wird im Rahmen einer TVP beim Menschen nicht beschrieben. Hosenpud et al. weisen auf eine „SMC-stimulierende Aktivität“ in der Media in Form einer Erhöhung der mRNA bestimmter Wachstumsfaktoren wie PDGF, TGF- α und bFGF hin (51). Eine frühe Proliferation von SMCs in der Media wird lediglich anhand eines Tierexperimentes von Tanaka et al. (103) beobachtet. In diesem Versuch (103) ist die Proliferation von medialen SMCs innerhalb der ersten zwei Wochen nach HTx durch eine vermehrte Inkorporation von Bromodesoxyuridin darstellbar.

Auch in Lungentransplantaten (13, 94), genauso wie in renalen Allograften (24), können vaskuläre SMCs innerhalb der Läsionen identifiziert werden. Die Manifestationsrate einer TVP nach Herz-Lungen-Transplantation ist jedoch geringer als nach HTx (13).

Die frühesten Anzeichen einer TVP in Form geringer intimaler Verdickungen können 9 Tage nach HTx gezeigt werden (37). Andere Autoren postulieren einen histologischen Nachweis ab dem 3. Monat nach Transplantation des Herzens (12). Die Beobachtung, daß eine endotheliale Aktivierung kurze Zeit nach HTx erfolgen kann und zwischen mikrovaskulären und epikardialen Koronararterien variieren kann, wird von Tanaka et al. (104) beschrieben. Anhand von Tiermodellen sind intimale Veränderungen in Form von modifizierten SMCs 20 Tage nach HTx nachweisbar (10).

2.2.3 Kapillaren

Trotz einer ausführlichen Literaturrecherche sind keine Veröffentlichungen bekannt, die das Auftreten einer TVP in Kapillaren beschreiben. Lediglich Faulk et al. (33) beschreiben α -Aktin-positive Blutgefäße, deren Gefäßkaliber den von Kapillaren entsprechen und deren Endothelzellen (EZ) Oberflächenmarker von Venen exprimieren, ohne jedoch dieses Phänomen weiter zu erläutern.

2.2.4. Venen

Die Ausdehnung der TVP auf das venöse System wird in der Literatur von Faulk et al. (33), Hosenpud et al. (53), Liu et al. (68) und Weis et al. (114) beschrieben. Veränderungen der Venen in Form einer TVP werden auch nach Lungentransplantation beobachtet (94). Andere Autoren distanzieren sich jedoch von diesen Befunden, da sie in ihren Studien keinen Befall des venösen Schenkels zeigen können (13, 37).

In Tabelle 1 sind morphologische Befunde bei transplantatbedingten Blutgefäßveränderungen als Übersicht zusammengestellt. Die Aufteilung der betroffenen Blutgefäße bezieht sich auf deren intramurale und extramurale Lokalisation sowie auf die von einer Proliferation gekennzeichneten anatomischen Strukturen.

Tabelle 1 Morphologische Befunde bei transplantatbedingten Blutgefäßveränderungen

Autoren	intramurale Blutgefäße betroffen			extramurale Blutgefäße betroffen		von einer Proliferation betroffene anatomische Struktur	Untersuchungs- methode
	Arterien	Kapillaren	Venen	Arterien	Venen		
Arbustini et al. (3)	ja	keine Angaben	keine Angaben	ja	keine Angaben	Intima, Adventitia; Media verdünnt	Histologie
Aziz et al. (5)	ja	keine Angaben	keine Angaben	ja	keine Angaben	Intima und Media (Tierexperiment)	Histologie
Ballantyne et al. (8)	ja	keine Angaben	keine Angaben	ja	keine Angaben	Intima	Angiographie, Histologie
Billingham (10)	ja	keine Angaben	keine Angaben	ja	keine Angaben	Intima, nicht Media	Angiographie, Histologie
Billingham (11)	ja	keine Angaben	keine Angaben	ja	keine Angaben	Intima	IVUS, Histologie
Billingham (12)	ja	keine Angaben	keine Angaben	ja	keine Angaben	Intima	Angiographie, Histologie
Billingham (13)	ja	keine Angaben	nein	ja	nein	Intima, Media verdünnt	Histologie
Clausell et al. (18)	ja	keine Angaben	keine Angaben	ja	keine Angaben	Intima	Angiographie, IVUS, Histologie
Demetris et al. (24)	nein	keine Angaben	keine Angaben	ja	keine Angaben	Intima, Adventitia, Media verdünnt	Histologie
Gao et al. (37)	nein	keine Angaben	nein	ja	keine Angaben	Intima	Angiographie, Histologie
Hosenpud et al. (53)	ja	keine Angaben	ja	ja	ja	Intima	Angiographie, Histologie
Johnson et al. (55)	keine Angaben	keine Angaben	keine Angaben	ja	keine Angaben	Intima	Angiographie, Histologie
Johnson et al. (56)	ja	keine Angaben	keine Angaben	ja	keine Angaben	Intima	Histologie
Klauss et al. (59)	keine Angaben	keine Angaben	keine Angaben	ja	keine Angaben	Intima	IVUS
Koskinen et al. (61)	keine Angaben	keine Angaben	keine Angaben	ja	keine Angaben	Intima	Histologie
Liu et al. (68)	ja	keine Angaben	ja	ja	ja	Intima	Histologie
Neish et al. (83)	ja	keine Angaben	keine Angaben	ja	keine Angaben	Intima	Histologie
Palmer et al. (86)	ja	keine Angaben	keine Angaben	ja	keine Angaben	Intima	Angiographie, Histologie
Pucci et al. (88)	ja	keine Angaben	keine Angaben	ja	keine Angaben	Intima, nicht Media	Angiographie, Histologie
Tanaka et al. (103)	ja	keine Angaben	keine Angaben	ja	keine Angaben	Intima und Media (Tierexperiment)	Histologie
Tuzcu et al. (107)	keine Angaben	keine Angaben	keine Angaben	ja	keine Angaben	Intima	IVUS
Valantine et al. (109)	keine Angaben	keine Angaben	keine Angaben	ja	keine Angaben	Intima	IVUS, Histologie
Weis et al. (114)	ja	keine Angaben	ja	ja	ja	Intima, Media verdünnt	Angiographie, IVUS, Histologie

2.3. Ätiopathogenese transplantatbedingter Blutgefäßveränderungen

Die entscheidenden Pathomechanismen sind bislang unbekannt, jedoch werden zahlreiche immunologische und nichtimmunologische pathogenetische Faktoren diskutiert.

Im Entwicklungsprozeß der TVP wird dem Einfluß der spezifischen (B- und T-Zellen) und unspezifischen (Monozyten, Makrophagen) Immunantwort sowie der Gerinnungskaskade maßgebliche Bedeutung zugeschrieben. Deren Effekte manifestieren sich an den Endothelzellen (EZ) und den vaskulären glatten Muskelzellen (SMCs).

Die immunologische Hypothese der Entwicklung einer TVP wird durch die Beobachtungen unterstützt, daß sie auf das arterielle und venöse System von Allograften begrenzt ist, innerhalb des Gefäßbaumes diffus verteilt ist und in Autograften nicht auftritt (114). Für einen solchen Zusammenhang sprechen auch die Beobachtungen, daß eine erhöhte endotheliale Expression von HLA I und II (65) sowie ein erhöhter Anteil an Makrophagen (54, 95) und deren Sekretionsprodukten wie PDGF (Platelet Derived Growth Factor) (98, 111), TNF- α (Tumor Necrosis Factor- α) (63, 111), TGF (Transforming Growth Factor) (111, 114), FGF (Fibroblast Growth Factor) (89, 111), Interleukin-1 (6, 111) und Interleukin-6 (6) im betroffenen Gewebe in Assoziation mit einer erhöhten Inzidenz dieser Erkrankung nachgewiesen werden können.

Die ständige Auseinandersetzung des Empfängers mit dem transplantierten Organ führt zu morphologisch faßbaren Veränderungen, die als „Rejektion“ bezeichnet werden. Diese manifestieren sich an mindestens zwei Orten, zu denen die Herzmuskelzellen und/ oder die Blutgefäße zählen. Hosenpud et al. (52) betrachten die ersten sechs Monate nach HTx und unterscheiden zwischen einer zellvermittelten Antwort gegen das Parenchym und gegen das vaskuläre System des Spenderorgans. Sie (52) sehen darin eine mögliche Erklärung für die Existenz einer progressiven vaskulären Erkrankung trotz des Fehlens von schweren akuten Rejektionsepisoden. Hammond et. al. (45) differenzieren zwischen einer ausschließlich zellulär bedingten Rejektion, einer vaskulären (humoralen) Rejektion und einem Mischtyp. In dieser Studie (45) zeigt sich eine signifikant verminderte Überlebensrate in Assoziation mit der vaskulären Rejektion innerhalb der ersten drei Jahre nach HTx. Hauptmann et al. (47) befinden die Rolle von zirkulierenden Ak in der Pathogenese der TVP als ungewiß, obwohl Dunn et al. (30) und Crisp et al. (22) die Verwicklung von antiendotheliale Ak in diesen Prozeß als wahrscheinlich annehmen.

Der Zusammenhang zwischen der Inzidenz einer TVP und akuten zellulären Abstoßungsepisoden bezüglich deren Auftreten mit Anzahl, Dauer und Schweregrad solcher Rejektionsepisoden ist umstritten. Die Problematik bei der Untersuchung einer solchen Assoziation besteht vor allem darin, daß die Studien hierzu zumeist retrospektiv sind, nur über eine geringe Anzahl von Patienten verfügen und innerhalb der beobachteten Gruppen das immunsuppressive Regimen nicht zwischen allen Patienten übereinstimmt (47). Des weiteren kommt hinzu, daß die Biopsieentnahmen zum einen zeitabhängig und zum anderen indikationsabhängig durchgeführt werden. Dieses erschwert die Vergleichbarkeit der vorliegenden Daten, da unterschiedlich viele Biopsieproben in unterschiedlich langen Zeitintervallen gewonnen werden. Radovancevic et al. (90) zeigen eine Assoziation der TVP mit der absoluten Anzahl zellulärer Rejektionsepisoden unabhängig von der Zeit nach HTx. Uretsky et al. (108) sehen einen Zusammenhang mit der Inzidenz von zwei oder mehr schweren akuten Abstoßungsepisoden innerhalb der ersten drei Jahre nach HTx und Mangiavacchi et al. (70) schränken diesen Zusammenhang auf die absolute Dauer der Rejektionsepisoden innerhalb des ersten Jahres nach HTx ein. Liu et al. (68) weisen auf eine Korrelation mit einer erhöhten Anzahl schwerer akuter Abstoßungsepisoden hin. Kobashiwaga et al. (60) grenzen eine Assoziation der TVP mit zellulären Rejektionsepisoden am stärksten ein, indem sie ihre Abhängigkeit von milden, akuten Abstoßungsepisoden während der ersten drei Monate nach HTx beschreibt. Andere Autoren, wie Winters et al. (116), demonstrieren ebenfalls eine Assoziation mit milden, andauernden Rejektionen. Neben Olivari et al. (85) und Pucci et al. (88), die auf eine Unabhängigkeit dieser vaskulären Veränderungen von dem individuellen Abstoßungsgeschehen hinweisen, distanzieren sich auch Hosenpud et al. (51) von einer solchen Assoziation, schränken das beobachtete Zeitintervall jedoch auf die ersten drei Monate nach HTx ein.

Als nichtimmunologischen kausalpathogenetischen Faktor wird u.a. eine Dysfunktion innerhalb der Gerinnungskaskade angenommen. Faulk et al. (32, 33) beschreiben das Phänomen eines Verlustes von Antithrombin III in Verbindung mit dem Auftreten einer TVP. Ähnliches beobachten Baldwin et al. (7) in Beziehung zu einer erhöhten Aktivität des Komplementsystems. Faulk et al. (32) betonen zusätzlich, daß diese serologisch nachweisbaren Veränderungen den angiographisch nachweisbaren vaskulären Veränderungen vorausgehen. Sie (33) können zeigen, daß ein Verlust von tPA (tissue Plasminogen Activator) bzw. eine erhöhte Konzentration und Aktivität von Fibrin in Zusammenhang mit der Inzidenz einer TVP zu beobachten ist. Dabei soll die Ablagerung von Fibrin das Myokard schädigen und eine Hypoxie, Azidose und letztendlich eine Nekrose von HMZ nach sich ziehen (33). Der Verlust von tPA wird durch ein Ausbleiben der antithrombinvermittelten Hemmung von Thrombin erklärt (33), jedoch wird in diesem Artikel nicht darauf hingewiesen, wie sich aus den beobachteten Phänomenen die kausalpathogenetische Beziehung zu einer TVP erläutern läßt. Rabinovitch et al. (89) und Molossi et al. (79) verweisen auf eine Erhöhung der Level von Fibronektin in SMCs in Zusammenhang mit dem Auftreten einer TVP. Dabei soll dieses Protein aufgrund seiner Fähigkeit, die transendotheliale Migration inflammatorischer T-Zellen zu fördern, den immunologischen Konflikt mit dem Transplantat unterstützen (18, 89). Gibbons (43) schreibt dem vaskulären Remodeling eine kausale Bedeutung in Bezug auf die Inzidenz von vaskulären Veränderungen nach HTx zu. Er stellt die TVP als das Resultat eines Verlustes der Fähigkeit zu adaptivem Remodeling dar, welcher in einem immunologischen Konflikt mit dem Transplantat begründet liegt. Als weiterer physiologischer Mechanismus wird von Dong et al. (28) die Apoptose in Betracht gezogen und eine Fas-vermittelte apoptotische Zytotoxizität bei TVP-Patienten beschrieben.

Der hauptauslösende Mechanismus, der zu den Veränderungen der Funktionszustände der o.g. Systeme führt ist ebenfalls unbekannt. Hier werden u.a. ein ischämieinduzierter Endothelschaden sowie eine verlängerte Reperusionszeit (4, 23) diskutiert.

Als Ziele dieser zahlreichen Einflußgrößen werden die EZ und SMCs betrachtet. Die EZ des Allografts sind aufgrund ihrer anatomischen Lokalisation dem Immunsystem des Empfängers am stärksten exponiert. Es wird die Hypothese vertreten, daß sie die Proliferation der SMCs in den Wänden der Arteriolen vermitteln. Hierfür spricht die Beobachtung, daß sie neben einer Expression von immunkompetenten Botenstoffen wie ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule-1) (8, 62), VCAM-1 (Vascular Adhesion Molecule-1) (65) und Interleukin-1 β (65, 79, 89) ebenfalls zu einer Sekretion von TNF- α (35) und Fibronektin (79, 89) befähigt sind. Dabei wird TNF- α ein proliferativer (65) und Fibronektin ein modulierender (79, 89) Effekt auf SMCs in Form einer Umwandlung von einem kontraktile zu einem beweglichen Phänotyp zugeschrieben. Die Expression von PECAM 1 als Immunomarker für EZ in Beziehung zur TVP als morphologisches Zeichen der chronischen Rejektion wird ebenfalls diskutiert (35).

Als Promotoren der TVP werden neben den o.g. Abstoßungsepisoden der betroffenen Patienten noch weitere Einflußfaktoren in Betracht gezogen. Die TVP kann gehäuft in Assoziation mit einer bestehenden Zytomegalievirusinfektion beobachtet werden (8, 61, 69, 70). Russell et al. (94) negieren einen solchen Zusammenhang.

Die Hypothese eines immunologischen Pathomechanismus wird durch die Beobachtung einer erhöhten Anzahl von HLA-Mismatchen in Assoziation mit dem Schweregrad der TVP unterstützt (102).

Die Problematik bei der Untersuchung der Pathogenese der TVP besteht darin, daß direkte Zusammenhänge durch die Interaktion von protektiven und akzelerierenden Faktoren verwischt werden.

2.4. Diagnose transplantatbedingter Blutgefäßveränderungen

Aufgrund ihrer diffusen Natur und den anfänglich nur geringen Veränderungen der großen Koronararterien erweist sich ihre Diagnose als schwierig. Den „goldenen Standard“ in der Diagnostik der TVP stellt die selektive Koronarangiographie dar, obwohl sie ihre Frühstadien verkennt oder unterschätzt (29, 53, 55, 64, 87, 101).

Anhand der Koronarangiographie lassen sich die Läsionen der akzelerierten TVP in vier Kategorien einteilen:

1. Typ A: diskrete, tubuläre und multiple Stenosen in den proximalen, mittleren oder distalen Gefäßästen
2. Typ B₁: proximal normale Gefäße mit abrupten distalen, konzentrischen Verengungen und Obliterationen
3. Typ B₂: proximal verengte Gefäße mit einer zunehmenden, konzentrischen Verengung nach distal
4. Typ C: irregulär verengte, distale Gefäße mit Wandunregelmäßigkeiten und abrupten Gefäßabbrüchen (37)

Andere nichtinvasive Methoden, wie die Thallium-Szintigraphie, das Belastungsechokardiogramm oder die Belastungsradionuklidventrikulographie sind insensitiv (99, 100, 114). Als neues diagnostisches Instrument in der Diagnostik der TVP steht seit kurzem der intravaskuläre Ultraschall (IVUS) zur Verfügung (64, 87, 101), für den eine höhere Sensitivität postuliert wird. Er vermag die genaue Morphologie und Wandmotilität der epikardialen Koronararterien zu beschreiben (11, 66), ist jedoch sehr von der lokalen Blutgefäßweite abhängig (11) und daher bei Kindern nur mit Schwierigkeiten anwendbar. Die Beurteilung der Koronararterien mit Hilfe eines Ultraschallkopfes mit einer Stärke von 3 French (1 French entspricht 1/3 mm) ist bis in Gefäßäste mit einem luminalen Durchmesser von 2 mm möglich.

Die Stanford-Klassifikation (109) der Läsionen der TVP mit Hilfe des intravaskulären Ultraschalls (IVUS) umfaßt folgende fünf Stadien:

1. 0 - keine intimale Hyperplasie
2. I - intimale Hyperplasie ist < 0,3 mm stark und betrifft < 180° des Blutgefäßes
3. II - intimale Hyperplasie ist < 0,3 mm stark und betrifft > 180° des Blutgefäßes
4. III - intimale Hyperplasie ist 0,3 bis 0,5 mm stark und betrifft < 180° des Blutgefäßes
5. IV - intimale Hyperplasie ist > 0,5 mm stark und betrifft > 180° des Blutgefäßes oder > 1,0 mm

Die Klassifikationen der Läsionen der TVP sowohl anhand der Koronarangiographie als auch mit Hilfe des IVUS sind „lesion based classifications“. Für die Gesamtbeurteilung dieser Erkrankung wäre aber eine Score notwendig, der die unterschiedliche Verteilung der Läsionen innerhalb der epikardialen Blutgefäße berücksichtigt.

Einige Artikel weisen auf eine mögliche Diagnose der TVP (18, 83, 86) bzw. auf einen diagnostisch verwertbaren Nachweis vaskulärer Veränderungen im Hinblick auf eine suffiziente Graftfunktion (45) mit Hilfe der Untersuchung von Herzmuskelbiopsien hin. Es existiert jedoch bisher kein standardisiertes und routinemäßig eingesetztes Verfahren zur Beurteilung der Veränderungen der kleinen, intramuralen Blutgefäße.

Die EMB gilt als sicheres und akkurate Mittel für die Erkennung einer Rejektion (27, 41, 93, 105). Sie findet ebenso Anwendung in der Überwachung der medikamentösen Rejektionstherapie, der Diagnose von diffusen spezifischen Erkrankungen des Herzens sowie der Erkennung von infektiösen Myokarditiden (27, 31, 72). Zur Zeit wird der Grad einer Abstoßungsreaktion mit Hilfe der Klassifikation der International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT) bestimmt, die in der folgenden Tabelle 2 dargestellt ist.

Tabelle 2 Klassifikation der Abstoßungsgrade nach der International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT) (9)

Grad	Definition
0	Es finden sich keine Anzeichen der akuten Rejektion oder von Schäden an Myozyten. „0“ ebenso bei zweifelhafter Rejektion.
01A *	Sie ist definiert als minimale beginnende Rejektion, die von perivasalen und/ oder interstitiellen Lymphozyteninfiltraten begleitet wird.
1A	Es bestehen fokale, perivaskuläre oder interstitielle Lymphozyteninfiltrate ohne Myokardbeteiligung. Es sollte eine oder mehrere Biopsien betroffen sein
1B	Hier beobachtet man ein diffuses perivaskuläres oder interstitielles Infiltrat. Sonst wie „1A“.
2	Das Entzündungsinfiltrat (Lymphozyten mit oder ohne Eosinophile) bildet einen scharf begrenzten Fokus, innerhalb welchem man architektonische Störungen bzw. Myozytenläsionen vorfindet.
3A	Es finden sich multifokale Entzündungsinfiltrate bestehend aus Lymphozyten und Eosinophilen. Es sollten eine oder mehr Biopsien betroffen sein.
3B	Der inflammatorische Prozeß betrifft mehrere Biopsien. Man beobachtet Myozytenschäden, ein aggressives Infiltrat aus Lymphozyten, Eosinophilen und evtl. Neutrophilen. Hämorrhagien sind normalerweise nicht vorhanden.
4	Es besteht ein polymorphes Entzündungsinfiltrat aus Lymphozyten, Eosinophilen und Neutrophilen verbunden mit Nekrosen und Schäden an den Myozyten. Ebenso beobachtet man Ödeme, Hämorrhagien und Vaskulitiden. Mitunter sind diese prominenter als das zelluläre Infiltrat, wenn die Patienten einer aggressiven immunsuppressiven Therapie unterzogen wurden.

* Dieser Abstoßungsgrad ist nicht in der ISHLT-Klassifikation enthalten und wurde von Prof. Dr. R. Meyer, Arbeitsgruppe Herzpathologie des Deutschen Herzzentrums Berlin, als Ergänzung hinzugefügt.

Diese Klassifikation der ISHLT gibt jedoch lediglich Auskunft über die phänotypische Erscheinungsform der Myozyten. Sie verzichtet auf eine morphologische Bewertung der vaskulären Veränderungen zur Beurteilung der Inzidenz, des Ausmaßes und der Folgen möglicher Abstoßungsepisoden. Deshalb wird am Deutschen Herzzentrum Berlin die konventionelle Klassifikation nach ISHLT durch eine gesonderte Beurteilung der vaskulären Reaktion ergänzt, deren Einteilung in Tabelle 3 erläutert ist.

Tabelle 3 Klassifikation der vaskulären Reaktion (nach Prof. Dr. R. Meyer, Arbeitsgruppe Herzpathologie, Deutsches Herzzentrum Berlin)

Grad	Definition
0/ 0	Endothelzellen unauffällig, Wand nicht verdickt, keine Proliferation
0/ 1	Endothelzellen unauffällig, Wand geringfügig verdickt, durch Proliferation
0/ 2	Endothelzellen unauffällig, Wand stark verdickt, durch Proliferation
1/ 0	Endothelzellen prominent (nicht geschwollen), Wand unauffällig
2/ 0	Endothelzellen stark geschwollen, Wand unauffällig
2/ 1	Endothelzellen stark geschwollen, Wand geringfügig verdickt, durch Proliferation
1/ 1	Endothelzellen gering geschwollen, Wand geringfügig verdickt, durch Proliferation
1/ 2	Endothelzellen gering geschwollen, Wand stark verdickt, durch Proliferation
2/ 2	Endothelzellen stark geschwollen, Wand stark verdickt, durch Proliferation

Das Deutsche Herzzentrum Berlin ist gegenwärtig die einzige Einrichtung, in dem die vaskulären Reaktionen regelmäßig bei jeder rechtsventrikulären Rejektionskontrollbiopsie mitbefundet werden.

In jüngerer Zeit wird die Methode der EMB zunehmend durch andere, nichtinvasive Diagnosetechniken ergänzt. Anwendung findet hier z.B. das IMEG (intramyokardiales Elektrogramm), welches aus einem Herzschrittmacher mit einer integrierten Telemetriefunktion besteht. Mit diesem Gerät ist es möglich, elektrische Spannungen im Ventrikel abzuleiten, wobei ein Spannungsabfall von mehr als 8% der individuellen Norm als akute Rejektion gewertet wird (113). Als eine weitere Alternative werden Untersuchungen mittels der Echokardiographie durchgeführt, in der Änderungen in der Relaxationszeit bzw. Messungen von Wandstärken Rückschlüsse bezüglich intrakardialer Abstoßungsvorgänge ermöglichen (113).

Zwar bewirken diese letztgenannten Methoden einen erhöhten Komfort des Patienten während des Posttransplantationsmanagements, jedoch ist ihr Informationsgehalt bezüglich filigraner intrakardialer Veränderungen stark begrenzt. Die EMB dagegen ist das einzige Verfahren, welches - wenn auch nur im Ausschnitt - einen Einblick in die Architektur des Myokards und der terminalen Strombahn gewährt.

2.5. Therapie transplantatbedingter Blutgefäßveränderungen

Die Therapie der TVP kann in einen nichtoperativen und in einen operativen Ansatz unterteilt werden:

Es kann gezeigt werden, daß unter Medikation mit antiproliferativen Agenzien wie Angiopeptin (Somatostatinanalogon) (76), Simvastatin (76, 115) und unter Verwendung des HELP-Systems (Heparin-mediated Extracorporal LDL-Fibrinogen Precipitation) (76) zur Erniedrigung des Plasma-LDL (low density lipoproteine)-Spiegels die Progression der TVP verlangsamt werden kann. Der gleiche Effekt kann unter der Therapie mit Diltiazem (42) beobachtet werden.

Im Tierversuch scheint der Einsatz von Angiotensin-Converting-Enzym-Hemmern und Kalzium-Kanal-Blockern (74) erfolgversprechend zu sein. Dabei soll die Wirksamkeit beider Substanzen in einem antiproliferativen Effekt auf SMCs begründet liegen (74). In einem Rattenmodell kann ihre Inzidenz mit Hilfe einer adjuvanten Heparintherapie gesenkt werden (50). Clowes et. al. (19) beschreiben analog zu diesem Befund in einem ähnlichen Modell eine spezifische Inhibition des Wachstums von SMCs und der intimalen Dickenzunahme unter Applikation von Heparin. Der Schweregrad der TVP konnte ebenfalls durch eine Therapie mit Mycophenolsäure (44), 15-Desoxypergualin (81) oder Rapamycin (77) abgeschwächt werden.

Wenn die TVP neben den proximalen Ästen der Koronararterien auch die kleinen penetrierenden Zweige des Gefäßbaumes befällt, ist eine operative Intervention ohne Erfolgsaussichten. Während die KHK in nichttransplantierten Herzen relativ erfolgreich mit Eingriffen wie der PTCA (perkutane transluminale Koronarangioplastie) oder durch die Implantation eines aortokoronaren Bypasses behandelt werden kann, sind diese Methoden bei den meisten TVP-Patienten nicht ausreichend wirksam (10, 41, 42, 83). Andere Alternativen wie die TMLR (transmyokardiale Laserrevaskularisierung) zeigen zum Teil positive Ergebnisse (71).

Zur Zeit scheint jedoch die einzige effektive Methode die Retransplantation (RTx) zu sein (10, 14, 40, 41, 53, 86, 116), die aufgrund des Mangels an Spenderorganen, der erhöhten Rekurrenz der TVP im neuen Transplantat (40) und der geringen Überlebenszeit nach RTx in Frage gestellt wird (40).

3. Ziel der Arbeit und Aufgabenstellung

Die Endomyokardbiopsie (EMB) ist ein wichtiges diagnostisches Instrument des postoperativen Betreuungsmanagements herztransplantierte Patienten. Daneben ist sie jedoch auch unabdingbar in der Erforschung und Beobachtung intramyokardialer Veränderungen nach HTx. Die Beurteilung von morphologischen und funktionellen Vorgängen in transplantierten Herzen trägt dazu bei, die postoperative Nachsorge individuell abzustimmen und zu optimieren. Hierbei sind neben therapeutischen Ansätzen auch die frühzeitige Diagnose intramyokardialer Veränderungen von besonderer Bedeutung. Zusätzlich zu der histologischen Beurteilung von EMBs mit Hilfe von HE-Schnitten bieten dafür immunhistochemische Färbemethoden neue Möglichkeiten.

Das Ziel dieser Arbeit ist, die Expression von Oberflächenantigenen vaskulärer Endothelzellen mit CD 31 und vaskulärer glatter Muskelzellen mit α -Aktin in rechtsventrikulären Kontrollbiopsien herztransplantierte Patienten darzustellen und zu quantifizieren, die im Verlauf der normalen postoperativen Rejektionsdiagnostik gewonnen wurden.

Im Vordergrund stand hierbei der quantitative Vergleich von Arteriolen und Kapillaren bei Patienten mit angiographischem Nachweis einer TVP mit solchen Patienten, bei denen weder zu Lebzeiten noch nach ihrem Tode die Existenz dieser Erkrankung nachgewiesen werden konnte. Unter der Annahme, daß die Klassifikation der ISHLT (9) und ihre Ergänzung (s. auch Kapitel 2.4.) in ausreichender Weise die zelluläre Auseinandersetzung des Empfängers mit dem Transplantat in Form von Schäden der Herzmuskelzellen und der reaktiven Veränderungen im angrenzenden Gewebe beschreiben, schafft diese Arbeit eine neue Qualität in Form einer quantitativen Erfassung von Veränderungen an intramyokardialen Blutgefäßen nach HTx.

Folgende Fragestellungen sollten mit dieser Arbeit beantwortet werden:

1. Lassen sich anhand der immunhistochemischen Färbungen Unterschiede zwischen den beiden Patientengruppen feststellen ?
2. Ist es möglich, diese Unterschiede zu quantifizieren ?
3. Bietet die immunhistochemische Aufarbeitung von EMBs gegenüber der rein histologischen Betrachtung Vorteile bezüglich der postoperativen Diagnostik und des postoperativen Betreuungsmanagements ?
4. Existiert eine zeitabhängige Dynamik des Expressionsverhaltens der Antigene nach HTx ?
5. Ist die frühe Diagnose einer akzelerierten TVP nach HTx mit diesem Verfahren möglich ?
6. Kann die verwendete histomorphometrische Methode als Ergänzung zu den konventionellen Diagnosetechniken der TVP nach HTx benutzt werden ?

4. Material

Zwischen dem 18. April 1986 und dem 31. März 1997 wurden am Deutschen Herzzentrum Berlin 971 Herztransplantationen (HTx) durchgeführt. Für diese retrospektive Studie wurden von diesen 41 Patienten ausgewählt, die sich in der Zeit vom 18. April 1986 bis 28. Juni 1992 einer HTx unterzogen hatten und die folgenden Kriterien entsprachen:

1. orthotope HTx
2. Exitus letalis
3. postoperative Überlebenszeit von mindestens 12 Monaten
4. Verfügbarkeit von mindestens einer postoperativen selektiven Koronarangiographie
5. Verifizierung der angiographischen Diagnose anhand eines Autopsieprotokolls (soweit vorhanden).

Anhand des Koronarangiographiebefundes wurde die Gesamtpopulation in eine TVP-Gruppe, in der mindestens in einer selektiven Koronarangiographie eine TVP diagnostiziert wurde und dieser Befund anhand eines Autopsieprotokolls verifiziert wurde, sowie in eine Kontrollgruppe unterteilt, in der sowohl alle Angiographie- als auch Sektionsbefunde keinen Hinweis auf das Bestehen einer TVP beinhalteten:

Die TVP-Gruppe umfaßte 15 Patienten (11 Männer, 4 Frauen), deren Operationsindikationen dKMP (N= 9), KHK (N= 5) und der Eisenmengerkomplex (N= 1, Herz-Lungen-Transplantation) darstellten. Das mittlere Alter zum Zeitpunkt der Transplantation betrug 49 Jahre (34-67 Jahre) und die mittlere Überlebenszeit mit Transplantat 57 Monate (12-95 Monate).

Die Kontrollgruppe bestand aus 26 Patienten (21 Männer, 5 Frauen), deren präoperative Diagnosen dKMP (N= 17) und KHK (N= 9) darstellten. Hier betrug das mittlere Alter bei HTx 47 Jahre (31-65 Jahre) und die mittlere Überlebenszeit 58 Monate (12-111 Monate).

Ausgeschlossen wurden alle Patienten, die weniger als 12 Monate überlebten, bei denen keine Angiographiebefunde verfügbar waren, in deren selektiven Koronarangiographien „Wandveränderungen“ und einzelne geringe Stenosen (25% Lumenverengung) diagnostiziert wurden oder nicht genügend Kontrollbiopsien verfügbar waren.

Von den 41 Patienten wurden die in Paraffin eingebetteten rechtsventrikulären Kontrollbiopsien (insgesamt 272) im Hinblick auf eine mögliche korrelative Beziehung zu der angiographisch nachgewiesenen TVP bzw. dem Fehlen dieses Befundes ausgewertet. Die Materialgewinnung erfolgte im Rahmen der postoperativen Nachsorge in der Zeit zwischen dem 5. Mai 1986 und dem 4. Mai 1993.

Alle Patienten erhielten eine Standarddreifachimmunsuppression aus Cyclosporin A, Azathioprin und Prednisolon. Die Rejektionstherapie beinhaltete initial 3-5 Tage 500 mg Methylprednisolon i.v. pro Tag und bei anhaltender mittelgradiger bzw. schwerer Abstoßung r-ATG oder OKT 3 (intravenös 1,5 mg pro kg Körpergewicht). Des weiteren wurden demographische Daten für alle Patienten und deren Spender, wie Ischämiezeit, Reperusionszeit, HLA-und Geschlechter-Matching sowie CMV-Status erfaßt (s. auch Anlage 1 - 6).

5. Methoden

5.1. Immunhistochemische Aufbereitung der Proben

Die Markierung von Oberflächenantigenen auf Zellen mit Hilfe spezifischer Antikörper ist eine Methode, die zur Zeit hauptsächlich in der Diagnostik von Neoplasien in Form von sog. Tumormarkern Verwendung findet. Man macht sich hierbei die unterschiedliche Expression von oberflächlichen Zellstrukturen zunutze, um verschiedene Zelltypen zu unterscheiden und Aussagen bezüglich ihres Aktivitätszustandes treffen zu können. Diese Methode wird ebenfalls seit 1996 am Deutschen Herzzentrum Berlin als Zusatzuntersuchung an rechtsventrikulären Kontrollbiopsien praktiziert. Es werden für jede Biopsie Präparate mit immunhistochemischen Markern für T-Zellen, B-Zellen, Makrophagen, Muskel-Aktin, Endothelzellen, HLA-DR sowie Kollagen III und V hergestellt. Somit steht neben einer HE-Färbung und einer Gomori-Färbung noch zusätzlich Material zur Verfügung, das eine genauere Beschreibung der zellulären Komponenten ermöglicht.

In der Immunhistochemie finden sowohl monoklonale als auch polyklonale Antikörper (Ak) für die Markierung von Antigenen (Ag) Verwendung. *Monoklonale* Ak werden von *einem* Plasmazellklon als Reaktion auf ein fremdes Ag ausgeschüttet, während *polyklonale* Ak das Produkt von *mehreren* verschiedenen Plasmazellen darstellen. Monoklonale Ak heben sich durch ihre weitreichende Homogenität, das Fehlen unspezifischer Ak, die leichte Charakterisierbarkeit sowie das Fehlen chargenabhängiger Qualitätsschwankungen hervor. Es ist jedoch zu beachten, daß der Verlust des Antigens oder die Beeinflussung seiner Reaktivität durch die Fixierung sowie die Existenz von mehr als einem möglichen Zielantigen (Kreuzreaktivität) die Aussagekraft und Qualität der histologischen Schnitte beeinflusst (82).

Um die Reaktion eines Ag mit einem spezifischen Ak sichtbar zu machen, wird der Ak an ein Enzym gekoppelt, welches anschließend bei entsprechendem Substratzusatz eine Farbreaktion auslöst. Man unterscheidet hierbei prinzipiell direkte und indirekte Färbemethoden. Bei der direkten Methode wird ein Ak verwendet, der spezifisch gegen ein bestimmtes Ag gerichtet ist. Sie ist schnell durchführbar und es treten kaum unspezifische Reaktionen auf, jedoch erfolgt auch keine Signalverstärkung (82). Im Gegensatz dazu werden bei der indirekten Methode zunächst unkonjugierte Ak an ein Ag gebunden, die im zweiten Schritt mit einem enzymgekoppelten Sekundärantikörper reagieren.

Zu den indirekten Färbeverfahren gehören auch die Avidin (Streptavidin)-Biotin-Methoden, die in dieser Arbeit Verwendung fanden. Diese nutzen die hohe Affinität von Avidin bzw. Streptavidin zu dem Vitamin Biotin, die eine höhere Sensitivität dieser Technik gegenüber anderen direkten und indirekten Färbemethoden bewirkt. Es werden derzeit zwei Methoden angewendet: die ABC-Technik, bei der ein vorgefertigter Avidin-Biotin-Enzym-Komplex eingesetzt wird, sowie die LAB-Technik, die enzymmarkiertes Avidin (labeled-avidin-biotin technique) nutzt. Das Prozedere besteht in der Applikation eines Primärantikörpers, eines biotinylierten Sekundärantikörpers (ABC) bzw. von enzymmarkiertem Avidin (LAB) und der Zugabe eines Substrates. Als Enzyme werden häufig Peroxidasen oder alkalische Phosphatase verwendet (82).

Die Qualität der auf diese Weise gewonnenen Präparate ist weiterhin abhängig von chemischen und physikalischen Einflußgrößen, wie z.B. Verdünnungen, Inkubationszeiten und der Raumtemperatur. Es ist daher erforderlich, zunächst eine möglichst optimale Konstellation der verschiedenen Reagenzien in Anlehnung an die vom Hersteller empfohlenen Richtlinien auszutesten.

Die innerhalb der Herzkatheteruntersuchungen entnommenen Biopsien wurden zum Transport in 4% gepuffertem Formol nach Lillie fixiert. Anschließend erfolgte eine Entwässerung und Einbettung des gewonnenen Gewebes in Paraffin. Für die Anfertigung eines Präparates wurde dieses unter Kühlung in 3 µm starke Schnitte getrennt und getrocknet.

Die HE-Färbung umfaßte eine Entparaffinierung in Xylol und eine Rehydrierung in einer absteigenden Alkoholreihe (90% - 70% - destilliertes Wasser). Danach wurde der Schnitt zuerst mit Hämalaun angefärbt, anschließend mit HCl-Alkohol differenziert und zuletzt mit Eosin (2%) versetzt.

Für die immunhistochemischen Präparate wurden APES (3- Aktinopropyltriethoxysilene) - beschichtete Objektträger verwendet, um die Haftung des Gewebes zu verbessern. Die histologischen Schnitte wurden nach 10-15 minütiger Trocknung nach dem oben genannten Schema entparaffiniert und rehydriert. Die Inkubation mit dem Primärantikörper (30 min) erfolgte nach Spülung mit TRIS-

(Trihydroxymethylaminomethanol) Puffer in sog. Cover-Plates (Firma Shandon), deren Funktion auf dem Kapillarspaltmechanismus basiert. Dabei wurde für α -Aktin der Klon 1 A4 und für CD 31 der Klon JC 70A verwendet. Anschließend wurde der Brückenantikörper (Avidin-Streptavidin-System der Firma Biogenex) appliziert (20 min). Vor und nach diesem Schritt wurde ebenfalls mit TRIS-Puffer gespült. Für die Farbreaktion wurden die Präparate für ca. 20 min unter Sichtkontrolle mit Neufuchsin-Kit (Firma Biogenex) versetzt. Die Gegenfärbung wurde mit Hämalun (30 sec) durchgeführt. Zur Unterdrückung der Hintergrundreaktivität wurden die CD 31-Präparate 3 mal 6 min in Antigenretravicta (Firma Biogenex) gekocht.

5. 2. Histomorphometrie

5. 2. 1. Untersuchungsbedingungen

Von den in Paraffin eingebetteten rechtsventrikulären Rejektionskontrollen jedes Patienten wurde jeweils die letzte Biopsie im 1., 2., 3., 5., 8., 11. und 14. Monat nach HTx ausgewählt. Es wurden histologische Präparate mit immunhistochemischen Markern für Endothelzellen (CD 31) und glatte Muskelzellen (α -Aktin) angefertigt und zusammen mit der dazugehörigen HE-Färbung histomorphometrisch ausgewertet. Die Bewertung der histologisch festgestellten Abstoßungsepisoden erfolgte nach den Kriterien der ISHLT (9) und ihrer Ergänzung. Die Untersuchungen wurden mit dem Durchlichtmikroskop HD-2 der Fa. Olympus durchgeführt. Die morphometrischen Messungen erfolgten mittels eines in den Strahlengang eines Okulars plazierten quadratischen NetZRasters bei 500 facher Vergrößerung. Von 100 möglichen Testpunkten mußten mindestens 75 Testpunkte Gewebe bedecken. Gewertet wurden nur solche Gefäße, deren Wand zu über 50% positiv mit dem jeweiligen Antikörper reagierten. Es wurden je Präparat mindestens 8 nichtüberlappende Gesichtsfelder (GF) ausgezählt, so daß insgesamt 816 Präparate und 12.863 GF bewertet wurden.

5. 2. 2. Berechnung einzelner Parameter

In den immunhistologischen Schnitten wurden folgende Größen bestimmt:

- die relative Testfeldgröße (RTFG) in Punkten
- die Gesamtanzahl der antikörpertragenden Blutgefäße (N_{BG})
- die Schnittpunkte des NetZRasters mit Herzmuskelzellen (SP von MZ)
- die Schnittpunkte des NetZRasters mit antikörpertragenden Blutgefäßen (SP von BG)

Anhand der Präparate in HE konnten folgende Parameter erfaßt werden:

- die relative Testfeldgröße (RTFG) in Punkten
- die Gesamtanzahl der HMZ-Kerne (N_{NC})
- die Schnittpunkte des NetZRasters mit dem Herzmuskelzell- (HMZ) Zytoplasma (SP von HMZ_{ZP})
- die Schnittpunkte des NetZRasters mit den HMZ-Kernen (SP von HMZ_{NC})

Die anschließenden Rechnungsgrößen konnten auf diese Weise ermittelt werden:

- RTFG in μm^2 :

$$RTFG / \mu m^2 = RTFG / Punkte * 400$$

- Anschnittdichte aller Gefäße :

$$NA_{CD\ 31} / mm^2 = \frac{N_{BG} * 10^6}{RTFG / \mu m^2}$$

- Anschnittdichte der Arteriolen:

$$NA_{\alpha\text{-Aktin}} / mm^2 = \frac{N_{BG} * 10^6}{RTFG / \mu m^2}$$

- Anschnittdichte der Kapillaren:

$$NA_{Kapillaren} = NA_{CD\ 31} / mm^2 - NA_{\alpha\text{-Aktin}} / mm^2$$

- Volumendichte aller Blutgefäße in Bezug zum Testfeld:

$$V_v\ BG_{CD\ 31} / \% = \frac{SP\ von\ BG_{CD\ 31} * 400 * 100}{RTFG / \mu m^2}$$

- Volumendichte der Arteriolen in Bezug zum Testfeld:

$$V_v\ BG_{\alpha\text{-Aktin}} / \% = \frac{SP\ von\ BG_{\alpha\text{-Aktin}} * 400 * 100}{RTFG / \mu m^2}$$

- Anteil aller Blutgefäße in Bezug zu den Herzmuskelzellen (HMZ):

$$RA\ BG_{CD\ 31} = \frac{SP\ von\ BG_{CD\ 31}}{SP\ von\ HMZ}$$

- Anteil der Arteriolen in Bezug zu den HMZ:

$$RA\ BG_{\alpha\text{-Aktin}} = \frac{SP\ von\ BG_{\alpha\text{-Aktin}}}{SP\ von\ HMZ}$$

- Volumendichte der HMZ in Bezug zum Testfeld:

$$V_v\ HMZ / \% = \frac{SP\ von\ HMZ * 400 * 100}{RTFG / \mu m^2}$$

- Fläche der Herzmuskelzellen (HMZ) (91):

$$A_{\text{HMZ}} / \mu\text{m}^2 = \frac{(\text{SP von HMZ}_{\text{ZP}} + \text{SP von HMZ}_{\text{NC}}) * 400}{N_{\text{NC}}}$$

- Gesamtanzahl der HMZ in Bezug zum Testfeld (TF):

$$N_{\text{HMZ}} / \text{TF} = \frac{(\text{SP von HMZ}_{\text{ZP}} + \text{SP von HMZ}_{\text{NC}}) * 400}{A_{\text{HMZ}} / \mu\text{m}^2}$$

- Anschnittdichte der HMZ:

$$NA_{\text{HMZ}} / \text{mm}^2 = \frac{N_{\text{HMZ}} / \text{TF} * 10^6}{\text{RTFG} / \mu\text{m}^2}$$

- Hypertrophiefaktor der HMZ:

$$HF_{\text{HMZ}} = \frac{(\text{V}_V \text{ von HMZ}_{\alpha\text{-Aktin}} + \text{V}_V \text{ von HMZ}_{\text{CD 31}}) / 2}{N_{\text{HMZ}} / \text{TF}}$$

5.3. Statistik

Die statistische Aufarbeitung erfolgte computergestützt mit Hilfe eines Auswertungsprogrammes (SPSS für Microsoft Windows, Version 6.0 und 6.1.2).

Es wurde eine deskriptive Auswertung mit Berechnung der Mittelwerte, der Standardabweichung sowie der Varianz durchgeführt. Da die morphometrischen Ergebnisse keiner Normalverteilung unterlagen, erfolgte die Signifikanzprüfung mit einem nichtparametrischen Test für zwei unabhängige Stichproben (Mann-Whitney-U-Test). Für den Vergleich der Werte innerhalb der Zeitverläufe wurde der Friedmann-Test und der Wilcoxon-Test benutzt. Die Auswertung der demographischen Daten erfolgte mit Hilfe des χ^2 -Tests. Ein $p < 0,05$ wurde als statistisch signifikant betrachtet.

6. Ergebnisse

6.1. Charakterisierung der Patientenpopulationen

Es fanden sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen der TVP- und Kontrollgruppe bezüglich des Alters bei HTx, der Überlebenszeit mit Transplantat, des Alters bei Exitus letalis, der Ischämiezeit, der Reperusionszeit und des Spenderalters (Tabelle 4a).

Tabelle 4a Demographische Daten der untersuchten Populationen

Parameter	TVP – Gruppe (\bar{x} +/- sd)	Kontrollgruppe (\bar{x} +/- sd)	Signifikanz ($p < 0,05$)
Alter bei HTx/ Jahren	50+/- 4,9	47+/- 7,6	ns*
Überlebenszeit/ Monaten	67+/- 22,4	60+/- 27,2	ns*
Exitus letalis/ Jahren	55+/- 5,2	52+/- 7,9	ns*
Ischämiezeit/ min	159+/- 23,3	150+/- 66,0	ns*
Reperusionszeit/ min	56+/- 20,6	51+/- 18,9	ns*
Spenderalter	36+/- 11,7	37+/- 11,3	ns*

* ns = nicht signifikant, \bar{x} = Mittelwert, sd = Standardabweichung

Die Ergebnisse der statistischen Signifikanzprüfung bezüglich der HTx-Indikation, der Azathioprin-, Cyclosporin- und Prednisolontherapie, dem Spendergeschlecht, dem CMV (Zytomegalievirus)-Status des Spenders und Empfängers sowie dem HLA (Human Leucocyte-Antigen)-Matching sind in Tabelle 4b dargestellt. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen festgestellt werden.

Tabelle 4b Ergebnisse der statistischen Signifikanzprüfung der demographischen Daten

Parameter	Signifikanz ($p < 0,05$)
HTx-Indikation	ns*
Azathioprintherapie	ns*
Cyclosporin A -Therapie	ns*
Prednisolontherapie	ns*
Spendergeschlecht	ns*
CMV -Serumstatus des Spenders	ns*
CMV -Serumstatus des Empfängers	ns*
HLA -Klassifikation des Spenders	ns*
HLA -Klassifikation des Empfängers	ns*

* ns = nicht signifikant

6.2 Auswertung der Rejektionsfrequenzen

Die Gesamtanzahl der einzelnen Rejektionsgrade für beide Untersuchungsgruppen ist in Tabelle 5a aufgeführt. Bezieht man die Anzahl der verschiedenen Abstoßungsgrade auf den einzelnen Patienten und faßt diese in Gruppen zusammen, so bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen der TVP- und Kontrollgruppe bezüglich der Anzahl und dem Schweregrad der Abstoßungen (Tabelle 5b).

Tabelle 5 a Rejektion – Gesamtanzahl der jeweiligen Grade in beiden Gruppen

ISHLT-Klassifikation	TVP-Gruppe	Kontrollgruppe	Signifikanz (p < 0,05)
0	49	102	ns*
01A ¹	9	15	ns*
1A	28	36	ns*
1B	3	2	ns*
2	1	7	ns*
3A	7	12	ns*
3B	1	0	ns*
Gesamtanzahl der Rejektionen	49	72	ns*

Tabelle 5 b Rejektion – Anzahl der Abstoßungen je Patient

ISHLT-Klassifikation	TVP-Gruppe	Kontrollgruppe	Signifikanz (p < 0,05)
0	4	3	ns*
01A ¹ – 2	2	3	ns*
3A – 3B	0,5	0,5	ns*

* ns = nicht signifikant, ¹ = Ergänzung von Prof. Dr. R. Meyer, Arbeitsgruppe Herzpathologie des Deutschen Herzzentrums Berlin

Erfolgt eine selektive Betrachtung der Rejektionsgrade in Abhängigkeit von der Zeit nach HTx fanden sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen (Tabelle 6).

Tabelle 6 Rejektionsgrade in Abhängigkeit von der Zeit nach HTx

	TVP-Gruppe							Kontrollgruppe						
	ISHLT-Klassifikation							ISHLT-Klassifikation						
Monate nach HTx	0	01A ¹	1A	1B	2	3A	3B	0	01A ¹	1A	1B	2	3A	Signifikanz (p < 0,05)
1	11		2		1	1		18	2	4			2	ns*
2	4	1	8	1			1	12	3	9			2	ns*
3	2	1	7	1		4		13	4	5		2	2	ns*
5	9	1	4	1				16	1	4	2		3	ns*
8	7	2	5			1		16	1	7		2		ns*
11	9	3	1					15	3	4		2	2	ns*
14	7	1	1			1		13	1	3			1	ns*

* ns = nicht signifikant, ¹ = Ergänzung von Prof. Dr. R. Meyer, Arbeitsgruppe Herzpathologie des Deutschen Herzzentrums Berlin

Die Zusammenfassung einzelner Abstoßungsgrade zu Gruppen zeigte in der TVP-Gruppe eine Häufung milder Rejektionsepisoden während des zweiten und dritten Monats nach HTx (Tabelle 7).

Tabelle 7 Gruppierung der Rejektionsgrade in Abhängigkeit von der Zeit nach HTx

	TVP-Gruppe				Kontrollgruppe				
	Rejektionsgruppen				Rejektionsgruppen				
Monate nach HTx	0	01A ¹	1A-2	3A-3B	0	01A ¹	1A-2	3A-3B	Signifikanz (p < 0,05)
1	11		3	1	18	2	4	2	ns*
2	4	1	9	1	12	3	9	2	0,02
3	2	1	8	4	13	4	7	2	0,01
5	9	1	5		16	1	6	3	ns*
8	7	2	5	1	16	1	9		ns*
11	9	3	1		15	3	6	2	ns*
14	7	1	1	1	13	1	3	1	ns*
	Rejektionsgruppen				Rejektionsgruppen				
Monate nach HTx	0	01A ¹ -1A	1B-2	3A-3B	0	01A ¹ -1A	1B-2	3A-3B	Signifikanz (p < 0,05)
1	11	2	1	1	18	6		2	ns*
2	4	9	1	1	12	12		2	ns*
3	2	8	1	4	13	9	2	2	0,02
5	9	5	1		16	5	2	3	ns*
8	7	7	1		16	8	2		ns*
11	9	4	2		15	7	2	2	ns*
14	7	2	1		13	4		1	ns*

* ns = nicht signifikant, ¹ = Ergänzung von Prof. Dr. R. Meyer, Arbeitsgruppe Herzpathologie des Deutschen Herzzentrums Berlin

Die Untersuchung der vaskulären Reaktion (s. auch Kapitel 2.4., Diagnose transplantatbedingter Blutgefäßveränderungen) ergab in der TVP-Gruppe einen signifikant größeren Wanddurchmesser im fünften Monat nach HTx. Während des verbleibenden Untersuchungszeitraumes blieben die Unterschiede nicht signifikant (Tabelle 8).

Das Ausmaß der Endothelzellschwellung war bei der TVP-Gruppe im dritten, vierten und elften Monat nach HTx signifikant stärker als bei den Kontrollen (Tabelle 8).

Tabelle 8 Darstellung der vaskulären Reaktion in Abhängigkeit von der Zeit nach HTx

	vaskuläre Reaktion			vaskuläre Reaktion		
	TVP-Gruppe	Kontrollgruppe		TVP-Gruppe	Kontrollgruppe	
Monate nach HTx	Wandverdünnung (\bar{x} +/- sd)	Wandverdünnung (\bar{x} +/- sd)	Signifikanz (p < 0,05)	Endothelzellschwellung (\bar{x} +/- sd)	Endothelzellschwellung (\bar{x} +/- sd)	Signifikanz (p < 0,05)
1	0,33+/- 0,49	0,42+/- 0,70	ns*	0,13+/- 0,35	0,04+/- 0,20	ns*
2	0,80+/- 0,68	0,65+/- 0,75	ns*	0,33+/- 0,49	0,12+/- 0,33	ns*
3	0,80+/- 0,68	0,89+/- 0,91	ns*	0,40+/- 0,51	0,04+/- 0,20	0,01
5	1,00+/- 0,85	0,42+/- 0,58	0,03	0,33+/- 0,49	0,08+/- 0,27	0,04
8	0,73+/- 0,80	0,35+/- 0,56	ns*	0,20+/- 0,41	0,04+/- 0,20	ns*
11	0,62+/- 0,51	0,62+/- 0,70	ns*	0,23+/- 0,44	0,00+/- 0,00	0,02
14	0,50+/- 0,71	0,67+/- 0,84	ns*	0,20+/- 0,42	0,06+/- 0,24	ns*

* ns = nicht signifikant, \bar{x} = Mittelwert, sd = Standardabweichung

6.3. CD 31-positive Blutgefäße

Es war für alle histologischen Schnitte eine positive Reaktion mit CD 31 zu verzeichnen und es konnten alle Präparate histomorphometrisch ausgewertet werden. Zwischen beiden Gruppen bestand ein Unterschied im qualitativen Färbeverhalten. Während in der Kontrollgruppe der Ak beständig die EZ der Blutgefäßwände klar und abgegrenzt markierte, so stellte sich die Farbreaktion in der TVP-Gruppe als unscharf begrenzt, verwaschen und körnig dar.

Die Anzahl der CD 31-positiven Gefäße wies eine Abhängigkeit von dem Grad der Rejektion auf. Während in der Kontrollgruppe ein Abfall der CD 31-Expression bei starken Abstoßungen im Vergleich zu negativen Rejektionskontrollen zu beobachten war, so zeigte die TVP-Gruppe zusätzlich einen Anstieg der CD 31-positiven Blutgefäße bei milder fokaler Abstoßung im Vergleich zu minimaler Rejektion (Tabelle 9).

Tabelle 9 Morphometrische Untersuchungsergebnisse der CD 31-abhängigen morphometrischen Parameter in Bezug zur Rejektion

	TVP-Gruppe							Kontrollgruppe						
	ISHLT-Klassifikation							ISHLT-Klassifikation						
Parameter	0	01A ¹	1A	1B	2	3A	Signifikanz (p < 0,05)	0	01A ¹	1A	1B	2	3A	Signifikanz (p < 0,05)
CD 31/ mm ²	762	820	831	749	839	844	ns*	759	734	733	746	700	661	0,02 (0-3A)
SP CD 31/ SP HMZ	0,09	0,11	0,10	0,13	0,10	0,11	ns*	0,14	0,13	0,14	0,09	0,14	0,13	0,05 (01A-3A)
Kapillaren/ mm ²	624	675	680	526	606	707	ns*	700	678	670	682	645	606	0,02 (0-3A)
Kapillaren/ Arteriolen	5	5	6	2	3	6	0,03 (01A-1A) 0,03 (1A-3A)	13	14	11	11	13	12	0,05 (0-3A)

* ns = nicht signifikant, SP= Schnittpunkt, HMZ= Herzmuskelzelle, ¹ = Ergänzung von Prof. Dr. R. Meyer, Arbeitsgruppe Herzpathologie des Deutschen Herzzentrums Berlin

Die Anzahl der HMZ, die von einer Kapillare versorgt wurden sowie die Volumendichte der CD 31-positiven Blutgefäße in Bezug zum Testfeld wiesen keine Rejektionsdynamik auf.

Erfolgt eine Aufschlüsselung nach der Zeit post HTx, zeigte sich ebenfalls eine Abhängigkeit der Anzahl der CD 31-positiven Blutgefäße von der Anzahl der Rejektionsepisoden. Die Anzahl der Rejektionsereignisse im zweiten und dritten Monat nach HTx waren negativ korreliert mit der Anzahl der CD 31-positiven Blutgefäße bzw. mit der Anzahl der Kapillaren vom zweiten bis 14. postoperativen Monat (Tabelle 10).

Tabelle 10 Spearman's Korrelationskoeffizient: ISHLT und CD 31-abhängige morphometrische Parameter (Signifikanz p < 0,05)

Parameter	Monate nach HTx	ISHLT-Klassifikation			
		2	3	11	8
CD 31/ mm ²	8	ns*	ns*	- 0,50	ns*
	11	ns*	ns*	- 0,39	- 0,42
Kapillaren/ Arteriolen	2	- 0,74	- 0,45	ns*	ns*
	5	- 0,48	- 0,72	ns*	ns*
	8	- 0,43	- 0,63	ns*	ns*
	14	- 0,38	- 0,55	ns*	ns*
Kapillaren/ mm ²	5	ns*	- 0,54	ns*	ns*
	8	ns*	- 0,40	- 0,39	- 0,42
V _v / % CD 31	5	ns*	- 0,41	ns*	ns*
	8	ns*	- 0,50	ns*	ns*
	14	ns*	- 0,43	ns*	ns*

* ns = nicht signifikant, V_v= Volumendichte

Die Zusammenfassung der einzelnen Rejektionsgrade zu Gruppen zeigte, daß die Rejektionsfrequenz innerhalb des zweiten und dritten Monats nach HTx negativ korreliert war mit der Anzahl der Blutgefäße in der CD 31-Färbung während des ersten bis 11. Beobachtungsmonats (Tabelle 11).

Tabelle 11 Spearman's Korrelationskoeffizient: Rejektionsgruppen und CD 31-abhängige morphometrische Parameter (Signifikanz $p < 0,05$)

		Rejektionsgruppen: 0, 01A ¹ , 1A – 2, 3A – 3B (0, 01A ¹ – 2, 3A – 3B)			
Parameter	Monate nach HTx	2	3	8	11
CD 31/ mm ²	8	ns*	ns*	ns*	- 0,51
	11	ns*	ns*	- 0,42	- 0,41
SP CD 31/ SP HMZ	1	(- 0,34)	ns*	ns*	ns*
	5	ns*	- 0,40 (- 0,34)	ns*	ns*
	8	ns*	- 0,45	ns*	ns*
	14	ns*	- 0,46(- 0,40)	ns*	ns*
Kapillaren/ Arteriolen	2	- 0,44	- 0,46	ns*	ns*
	5	- 0,44	- 0,72 (- 0,37)	ns*	ns*
	8	- 0,40	- 0,64 (- 0,31)	ns*	ns*
	14	- 0,60 (- 0,42)	(- 0,49)	ns*	ns*
Kapillaren/ mm ²	2	(- 0,31)	ns*	ns*	ns*
	5	ns*	- 0,53	ns*	ns*
	8	ns*	ns*	ns*	- 0,51
	11	ns*	ns*	- 0,42	- 0,41

* ns = nicht signifikant, SP= Schnittpunkt, HMZ= Herzmuskelzelle, ¹ = Ergänzung von Prof. Dr. R. Meyer, Arbeitsgruppe Herzpathologie des Deutschen Herzzentrums Berlin

In Tabelle 12 ist die Korrelation zwischen der Endothelzellschwellung und den Parametern der CD 31-positiven Blutgefäßen aufgeführt. Es zeigte sich eine negative Abhängigkeit der Endothelzellschwellung im dritten bis 11. Monat von den Rechnungsgrößen während des zweiten bis 14. Monats nach HTx.

Tabelle 12 Spearman's Korrelationskoeffizient: Endothelzellschwellung und CD 31-abhängige morphometrische Parameter (Signifikanz $p < 0,05$)

		Endothelzellschwellung			
Parameter	Monate nach HTx	3	5	8	11
SP CD 31/ SP HMZ	2	- 0,42	ns*	ns*	- 0,42
	3	ns*	ns*	ns*	- 0,36
	5	ns*	- 0,32	ns*	ns*
	8	ns*	ns*	ns*	- 0,32
	11	- 0,37	ns*	ns*	ns*
	14	- 0,52	ns*	- 0,38	ns*
Kapillaren/ Arteriolen	2	ns*	ns*	ns*	- 0,38
	3	ns*	ns*	ns*	- 0,32
	5	ns*	ns*	ns*	- 0,32
	11	- 0,34	ns*	ns*	ns*
	14	ns*	- 0,36	ns*	ns*
V _v / % von CD 31	2	- 0,41	ns*	ns*	ns*
	3	- 0,31	ns*	ns*	- 0,38
	5	ns*	- 0,34	ns*	- 0,42
	11	- 0,41	ns*	ns*	ns*
	14	- 0,51	ns*	ns*	ns*

* ns = nicht signifikant SP= Schnittpunkt, MZ= Herzmuskelzelle, V_v= Volumendichte

Es ergab sich keine Korrelation zwischen den berechneten Parametern der CD 31-Färbungen und dem Ausmaß der Gefäßwandverdickungen in den HE-Färbungen.

Die Gesamtzahl der Blutgefäße änderte sich während des gesamten Beobachtungszeitraumes nicht. Es war keine Verbreiterung der Intima beobachtbar. Im fünften Monat nach HTx wiesen die histologischen Schnitte der Kontrollpatienten statistisch signifikant mehr Kapillaren auf als die der TVP-Patienten. Die Anschnittdichten der CD 31-positiven Gefäße und die Anzahl der Kapillaren jeweils bezogen auf eine Testfläche von 1 mm² unterschieden sich im verbleibenden Untersuchungszeitraum nicht signifikant zwischen beiden Gruppen. Die Standardabweichung in der Kontrollgruppe war deutlich geringer als in der TVP-Gruppe (Tabelle 13a und b, Abbildung 1 und 2).

Tabelle 13 a Morphometrische Untersuchungsergebnisse der Anschnittdichten CD 31-positiver Blutgefäße

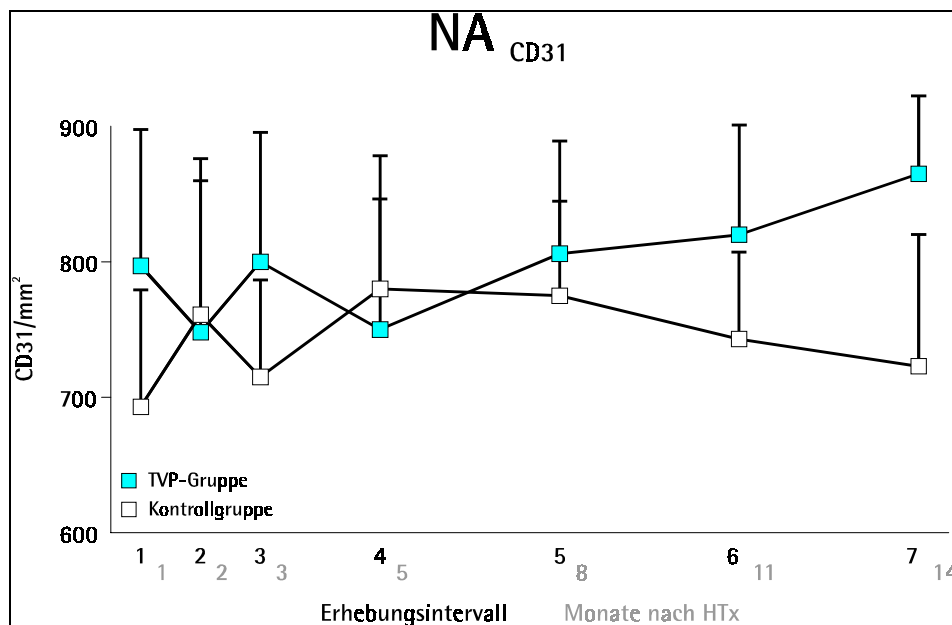
	TVP - Gruppe	Kontrollgruppe	Mann-Whitney-Test
Monate nach HTx	NA _{CD31} / mm ² (\bar{x} +/- sd)		Signifikanz (p < 0,05)
1	797+/- 247,1	693+/- 127,3	ns*
2	748+/- 231,5	761+/- 145,9	ns*
3	800+/- 252,9	715+/- 115,1	ns*
5	750+/- 240,5	780+/- 143,7	ns*
8	806+/- 173,4	775+/- 104,6	ns*
11	820+/- 210,6	743+/- 101,6	ns*
14	865+/- 172,1	723+/- 122,0	ns*
Friedmann-Test Signifikanz (p < 0,05)	ns*	ns*	

* ns = nicht signifikant, \bar{x} = Mittelwert, sd = Standardabweichung

Tabelle 13 b Morphometrische Untersuchungsergebnisse der Anschnittdichten der Kapillaren

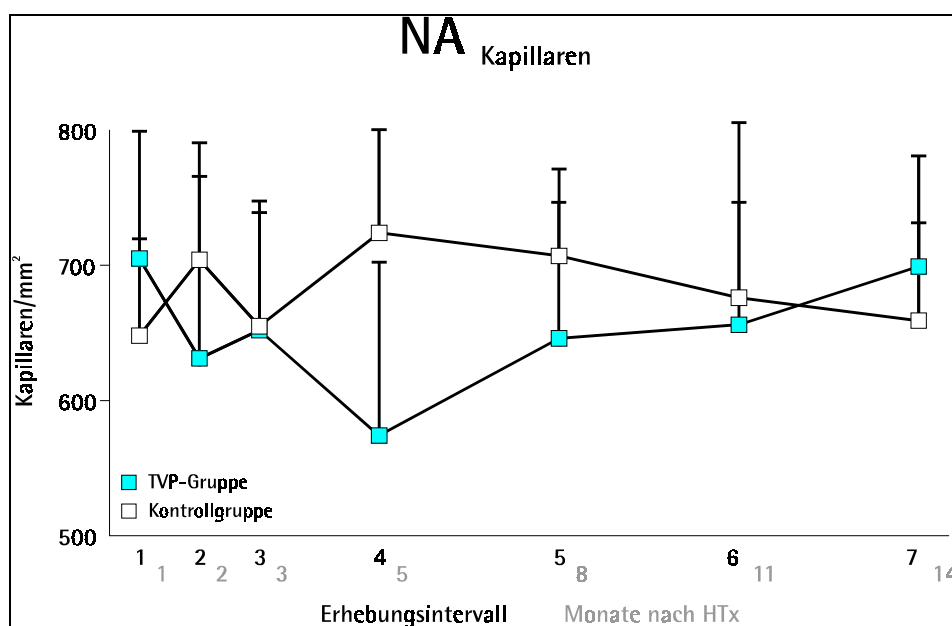
	TVP - Gruppe	Kontrollgruppe	Mann-Whitney-Test
Monate nach HTx	NA _{Kapillaren} / mm ² (\bar{x} +/- sd)		Signifikanz (p < 0,05)
1	705+/- 255,2	648+/- 126,3	ns*
2	631+/- 239,9	704+/- 143,5	ns*
3	652+/- 230,2	655+/- 108,5	ns*
5	574+/- 212,4	724+/- 144,3	0,03
8	646+/- 153,6	707+/- 103,6	ns*
11	656+/- 205,4	676+/- 106,7	ns*
14	699+/- 133,8	659+/- 118,5	ns*
Friedmann-Test Signifikanz (p < 0,05)	ns*	ns*	

* ns = nicht signifikant, \bar{x} = Mittelwert, sd = Standardabweichung



NA = number per area

Abbildung 1 Vergleich der Anschnittdichten der CD 31-positiven Blutgefäße bei TVP- und Kontrollpatienten



NA = number per area

Abbildung 2 Vergleich der Anschnittdichten der Kapillaren bei TVP- und Kontrollpatienten

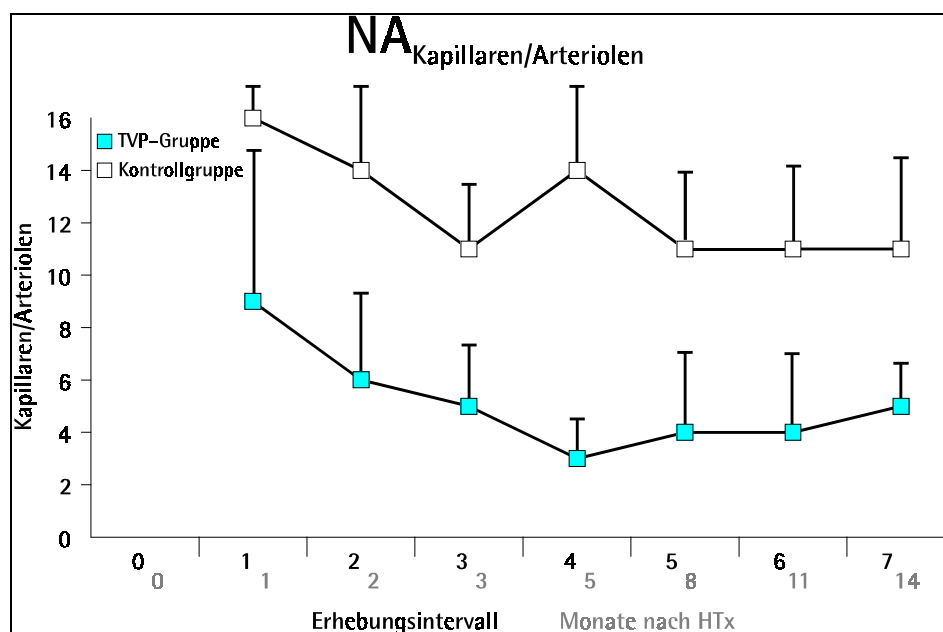
Der Quotient, gebildet aus der Anzahl der Kapillaren zu der Anzahl der Arteriolen (morphologisches Äquivalent der Güte der strukturellen Blutversorgung), nahm während des gesamten Untersuchungszeitraumes in beiden Gruppen ab. Die Kapillardichte war bei Patienten mit TVP

statistisch signifikant geringer als bei den Kontrollpatienten und nahm bis zum dritten Monat nach HTx in beiden Gruppen ab (Tabelle 14, Abbildung 3).

Tabelle 14 Morphometrische Untersuchungsergebnisse bezüglich der Quotienten aus $NA_{\text{Kapillaren/Arteriolen}}$

	TVP - Gruppe	Kontrollgruppe	Mann-Whitney-Test
Monate nach HTx	$NA_{\text{Kapillaren/Arteriolen}}$ ($\bar{x} \pm \text{sd}$)		Signifikanz ($p < 0,05$)
1	9,3+/- 5,6	15,7+/- 5,1	0,00
2	6,1+/- 2,8	13,8+/- 5,4	0,00
3	4,8+/- 2,3	11,3+/- 2,4	0,00
5	3,4+/- 1,4	13,6+/- 4,4	0,00
8	4,1+/- 1,0	11,1+/- 3,4	0,00
11	4,3+/- 1,9	11,3+/- 4,7	0,00
14	4,5+/- 1,3	10,6+/- 2,8	0,00
Friedmann-Test Signifikanz ($p < 0,05$)	0,00	0,00	

\bar{x} = Mittelwert, sd = Standardabweichung



NA = number per area

Abbildung 3 Vergleich der Quotienten aus $NA_{\text{Kapillaren/Arteriolen}}$ bei TVP- und Kontrollpatienten

Die morphometrischen Ergebnisse der CD 31-Färbungen waren unabhängig von den in Tabelle 4a und Tabelle 4b erhobenen demographischen Charakteristika der Patienten.

6. 4. α -Aktin-positive Blutgefäße

Es erfolgte für alle histologischen Schnitte eine positive Reaktion mit α -Aktin. Alle angefertigten Präparate gingen in die histomorphometrische Analyse ein.

Die Anzahl der α -Aktin-positiven Blutgefäße veränderte sich bei verschiedenen Graden der Abstoßung nicht. Der Quotient aus Arteriolen zu CD 31-positiven Blutgefäßen wies bei der TVP-Gruppe einen Anstieg bei milder fokaler Abstoßung im Vergleich zu minimaler Rejektion auf, sowie einen Abfall bei starker Abstoßungsreaktion (Tabelle 15).

Tabelle 15 Morphometrische Untersuchungsergebnisse der α -Aktin-abhängigen morphometrischen Parameter in Bezug zur Rejektion

	TVP-Gruppe							Kontrollgruppe						
	ISHLT-Klassifikation							ISHLT-Klassifikation						
Parameter	0	01A ¹	1A	1B	2	3A	Signifikanz (p < 0,05)	0	01A ¹	1A	1B	2	3A	Signifikanz (p < 0,05)
Arteriolen/ mm ²	138	145	151	223	233	137	ns*	59	55	63	64	55	55	ns*
SP Arteriolen/ SP HMZ	0,05	0,06	0,05	0,05	0,06	0,04	ns*	0,03	0,02	0,03	0,03	0,03	0,02	ns*
V _v / % von Arteriolen	3,6	4,2	3,7	3,8	3,3	3,2	ns*	2,0	1,6	2,1	2,3	2,0	2,0	ns*
Arteriolen/ CD 31	0,19	0,18	0,19	0,29	0,28	0,17	0,03(01A-1A) 0,03 (1A-3A)	0,08	0,08	0,09	0,09	0,08	0,09	ns*

* ns = nicht signifikant, SP= Schnittpunkt, HMZ= Herzmuskelzelle, V_v= Volumendichte,¹ = Ergänzung von Prof. Dr. R. Meyer, Arbeitsgruppe Herzpathologie des Deutschen Herzzentrums Berlin

Bei zeitabhängiger Betrachtung ergab sich eine positive Korrelation der Proliferation glatter Muskelzellen während aller Erhebungsintervalle in Abhängigkeit von der Rejektionsfrequenz im zweiten und dritten Monat nach HTx (Tabelle 16).

Tabelle 16 Spearman's Korrelationskoeffizient: ISHLT und α -Aktin-abhängige morphometrische Parameter (Signifikanz p < 0,05)

		ISHLT-Klassifikation	
Parameter	Monate nach HTx	2	3
Arteriolen/ mm ²	1	ns*	0,37
	2	0,41	0,47
	5	0,52	0,63
	8	0,41	0,59
	11	ns*	0,42
	14	ns*	0,38
HMZ/ Arteriolen	1	ns*	- 0,39
	2	- 0,48	- 0,51
	3	ns*	- 0,40
	5	- 0,46	- 0,59
	8	- 0,51	- 0,52
	11	ns*	- 0,46
	14	ns*	- 0,45
Arteriolen/ CD 31	2	0,47	0,45
	5	0,47	0,72
	8	0,43	0,63
	14	ns*	0,55

* ns = nicht signifikant, HMZ= Herzmuskelzelle

Nach Gruppierung der einzelnen Rejektionsgrade zeigte sich ebenfalls eine positive Abhängigkeit der Anzahl der Arteriolen im gesamten Beobachtungszeitraum vom jeweiligen Abstoßungsgeschehen im zweiten und dritten postoperativen Monat (Tabelle 17).

Tabelle 17 Spearman's Korrelationskoeffizient: Rejektionsgruppen und α -Aktin-abhängige morphometrische Parameter (Signifikanz $p < 0,05$)

		Rejektionsgruppen: 0, 01A ¹ , 1A – 2, 3A – 3B (0, 01A ¹ – 2, 3A – 3B)	
Parameter	Monate nach HTx	2	3
Arteriolen/ mm ²	1	ns*	0,40
	2	0,38	0,49
	3	ns*	0,40
	5	0,50	0,63 (0,34)
	8	0,40	0,61 (0,32)
HMZ/ Arteriolen	2	- 0,45	- 0,54
	3	ns*	- 0,43 (- 0,32)
	5	- 0,44	- 0,61
	8	- 0,50	- 0,55
	11	ns*	- 0,47
	14	ns*	- 0,49 (- 0,42)
V _v / % von Arteriolen	3	0,38	0,45
	5	ns*	0,59
	8	ns*	0,59

* ns = nicht signifikant, HMZ= Herzmuskelzelle, V_v= Volumendichte,¹ = Ergänzung von Prof. Dr. R. Meyer, Arbeitsgruppe Herzpathologie des Deutschen Herzzentrums Berlin

In Tabelle 18 ist die Abhängigkeit der α -Aktin-positive Blutgefäße von der Endothelzellschwellung dargestellt. Es ergab sich eine schwach positive Korrelation zwischen der Endothelzellschwellung und der Anzahl der Arteriolen innerhalb der ersten fünf Monate nach HTx gefolgt von einer stärkeren positiven Korrelation im 11. postoperativen Monat.

Tabelle 18 Spearman's Korrelationskoeffizient: Endothelzellschwellung und α -Aktin-abhängige morphometrische Parameter (Signifikanz $p < 0,05$)

		Endothelzellschwellung					
Parameter	Monate nach HTx	1	2	3	5	11	14
Arteriolen/ mm ²	8	ns*	ns*	ns*	ns*	0,33	ns*
	14	0,38	0,36	ns*	ns*	ns*	ns*
Arteriolen/ CD 31	2	ns*	ns*	ns*	ns*	0,38	ns*
	3	ns*	ns*	ns*	ns*	0,32	ns*
	5	ns*	ns*	ns*	ns*	0,32	ns*
	11	ns*	ns*	0,33	ns*	ns*	ns*
	14	0,38	0,36	ns*	0,36	ns*	ns*
HMZ/ Arteriolen	1	ns*	ns*	ns*	ns*	ns*	ns*
	2	ns*	ns*	ns*	ns*	- 0,32	ns*
	3	ns*	ns*	ns*	ns*	- 0,32	ns*
	8	ns*	ns*	ns*	ns*	- 0,37	- 0,39
	14	- 0,43	ns*	ns*	ns*	- 0,41	ns*

* ns = nicht signifikant, HMZ= Herzmuskelzelle

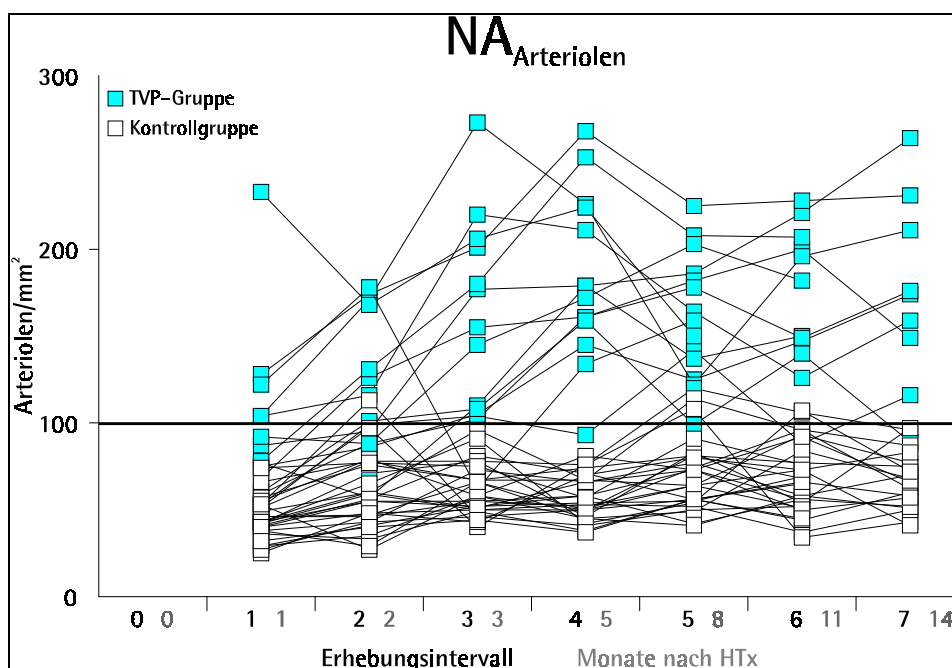
Das Ausmaß der Wandverdickungen in HE korrelierte im späteren postoperativen Verlauf, d.h. fünf bis 11 Monate nach HTx positiv mit der Proliferation von SMCs in der frühen Phase bis zum achten postoperativen Monat (Tabelle 19).

Tabelle 19 Spearman's Korrelationskoeffizient: Wandverdickung und α -Aktin-abhängige morphometrische Parameter (Signifikanz $p < 0,05$)

Parameter	Monate nach HTx	Wandverdickung			
		5	8	11	14
Arteriolen/ mm^2	1	0,32	ns*	ns*	ns*
	5	0,33	ns*	ns*	ns*
	8	0,37	ns*	ns*	ns*
V_v / % von Arteriolen	1	ns*	ns*	0,37	ns*
	5	0,31	ns*	ns*	ns*
	8	0,36	ns*	ns*	ns*
	11	ns*	0,31	ns*	ns*
Arteriolen/ CD 31	1	0,32	ns*	ns*	0,39
	5	0,38	ns*	ns*	ns*
	8	0,44	ns*	ns*	ns*

* ns = nicht signifikant, V_v = Volumendichte

Im gesamten Patientenkollektiv fand sich im Untersuchungszeitraum eine wenn auch unterschiedliche Zunahme an α -Aktin tragenden Gefäßen. Dabei fanden sich die Mehrzahl der Werte der TVP-Gruppe oberhalb der Grenze von 100 Arteriolen/ mm^2 , während die Anzahl der Arteriolen bei der Kontrollgruppe fast immer unter dieser blieb (Abbildung 4). Neben dieser Zunahme an α -Aktin positiven Gefäßen war auch eine Zunahme von SMCs in bereits präexistenten Arteriolen zu beobachten, d.h. die Media der Gefäße stellte sich als selektiv verbreitert dar.



NA = number per area

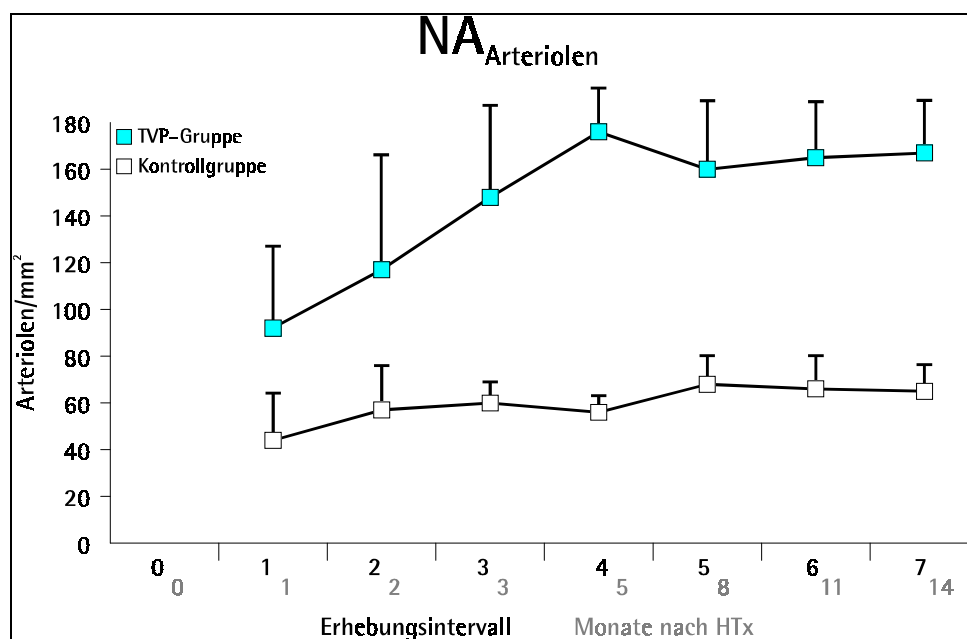
Abbildung 4 Darstellung der Anschnittdichten der α -Aktin-positiven Blutgefäße aller beobachteten Patienten

Die TVP-Gruppe wies in allen Untersuchungszeiträumen einen statistisch signifikant erhöhten Anteil an α -Aktin tragenden Blutgefäßen gegenüber der Kontrollgruppe auf (Tabelle 20, Abbildung 5). Diese Veränderungen der Anschnittdichten arterieller Blutgefäße, nachweisbar bei 14 der 15 Patienten der Untersuchungsgruppe, waren bereits in der frühen postoperativen Phase (4 Wochen post HTx) nachweisbar und stellten sich in den nachfolgenden Kontrollbiopsien mit zunehmender Intensität dar. Nach 90 Tagen schien dieser Prozeß abgeschlossen zu sein und es bildete sich ein Plateau aus.

Tabelle 20 Morphometrische Untersuchungsergebnisse der Anschnittdichten der α -Aktin-positiven Blutgefäße

	TVP – Gruppe	Kontrollgruppe	Mann-Whitney-Test
Monate nach HTx	$\text{Na}_{\alpha\text{-Aktin}} / \text{mm}^2$ ($\bar{x} \pm \text{sd}$)	$\text{Na}_{\alpha\text{-Aktin}} / \text{mm}^2$ ($\bar{x} \pm \text{sd}$)	Signifikanz ($p < 0,05$)
1	92+/- 44,8	44+/- 11,5	0,00
2	117+/- 38,3	57+/- 20,6	0,00
3	148+/- 57,7	60+/- 14,7	0,00
5	176+/- 52,2	56+/- 12,2	0,00
8	160+/- 35,5	68+/- 18,0	0,00
11	165+/- 42,8	66+/- 19,0	0,00
14	167+/- 54,4	65+/- 14,8	0,00
Friedmann-Test Signifikanz ($p < 0,05$)	0,00	0,00	

\bar{x} = Mittelwert, sd = Standardabweichung



NA = number per area

Abbildung 5 Vergleich der Anschnittdichten der α -Aktin-positiven Blutgefäße bei TVP- und Kontrollpatienten

Erfolgt eine Aufteilung der Anzahl der Arteriolen in zeitabhängige Gruppen, zeigte sich der Proliferationsprozeß nach drei Monaten post HTx als abgeschlossen. Zwischen dem fünften und 14. Beobachtungsmonat war keine Proliferation der SMCs mehr nachweisbar (Tabelle 21).

Tabelle 21 Friedmann-Test: Zeitabhängigkeit der Zunahme der α -Aktin-abhängigen morphometrischen Parameter bei TVP- und Kontrollpatienten

Parameter	Monate nach HTx	Friedmann -Test Signifikanz ($p < 0,05$)	
		TVP-Gruppe	Kontrollgruppe
Arteriolen/ mm ²	1 – 3	0,00	0,00
	5 – 14	ns*	ns*
SP Arteriolen/ SP HMZ	1 – 3	0,00	0,00
	5 – 14	ns*	ns*
Arteriolen/ CD 31	1 – 3	0,00	0,00
	5 – 14	ns*	ns*
V _v / % von Arteriolen	1 – 3	0,00	0,01
	5 – 14	ns*	ns*

* ns = nicht signifikant, SP= Schnittpunkt, HMZ= Herzmuskelzelle, V_v= Volumendichte

Der Vergleich der α -Aktin-positiven Blutgefäße aus angrenzenden Beobachtungseinheiten ließ erkennen, daß der Proliferationsprozeß der SMCs nach dem achten Monat nach HTx beendet war (Tabelle 22).

Tabelle 22 Wilcoxon-Test: Vergleich der Anzahl α -Aktin-positiver Blutgefäße in Abhängigkeit vom Beobachtungsmonat bei TVP- und Kontrollpatienten

Parameter	Monate nach HTx	Wilcoxon -Test Signifikanz ($p < 0,05$)	
		TVP-Gruppe	Kontrollgruppe
Arteriolen/ mm ²	1 – 2	0,02	0,00
	2 – 3	0,01	ns*
	3 – 5	0,02	ns*
	5 – 8	ns*	0,00
	8 – 11	ns*	ns*
	11 – 14	ns*	ns*
Kapillaren/ Arteriolen	1 – 2	0,00	0,02
	2 – 3	0,02	ns*
	3 – 5	0,01	0,01
	5 – 8	0,02	0,00
	8 – 11	ns*	ns*
	11 – 14	ns*	ns*

* ns = nicht signifikant

Im Folgenden soll die Beziehung der Anschnittdichten der α -Aktin-positiven Blutgefäße mit den Anschnittdichten der CD 31-positiven Blutgefäße dargestellt werden. Es fand sich eine positive Korrelation der Gesamtanzahl der Blutgefäße im 1. und 3. Monat nach HTx mit der Anzahl der Arteriolen im gesamten Beobachtungszeitraum. Außerdem zeigte sich eine schwach positive Korrelation von CD 31 im letzten Erhebungsintervall mit der Anschnittdichte der Arteriolen (Tabelle 23 a).

Tabelle 23 a Spearman's Korrelationskoeffizient: Ergebnisse der Anschnittdichten der α -Aktin-positiven Blutgefäße und der CD 31-positiven Blutgefäße (Signifikanz $p < 0,05$)

		Arteriolen/ mm ²						
Parameter	Monate nach HTx	1	2	3	5	8	11	14
CD 31/ mm ²	1	0,48	0,41	0,49	ns*	0,37	0,39	0,48
	3	0,58	0,46	0,63	0,46	0,41	0,39	0,53
	14	0,43	ns*	ns*	ns*	ns*	ns*	0,49

* ns = nicht signifikant

In Tabelle 23 b ist die Korrelation des Quotienten aus der Anschnittdichte der CD 31-positiven Blutgefäße und der HMZ sowie der Volumendichte der CD 31-positiven Blutgefäße mit der Anzahl der α -Aktin-positiven Blutgefäße bestimmt worden. Es zeigte sich eine negative Korrelation dieser CD 31- Parameter im 1. bis 3. und im 11. postoperativen Monat mit der Anschnittdichte der Arteriolen vom 3. Monat nach HTx bis zum Ende des Beobachtungszeitraums.

Tabelle 23 b Spearman's Korrelationskoeffizient: Ergebnisse der Anschnittdichten der α -Aktin-positiven Blutgefäße und der CD 31-abhängigen morphometrischen Parameter (Signifikanz $p < 0,05$)

		Arteriolen/ mm ²				
Parameter	Monate nach HTx	3	5	8	11	14
SP CD 31/ SP HMZ	1	- 0,45	- 0,54	- 0,41	- 0,48	- 0,40
	2	- 0,37	- 0,46	- 0,43	- 0,38	ns*
	5	ns*	ns*	- 0,40	- 0,44	ns*
	8	- 0,42	- 0,51	- 0,42	- 0,47	ns*
	11	- 0,39	ns*	ns*	- 0,37	ns*
V _v / % von CD 31	1	- 0,39	- 0,47	- 0,38	- 0,50	- 0,40
	2	ns*	- 0,41	ns*	ns*	ns*
	3	- 0,42	- 0,51	- 0,42	- 0,50	ns*
	5	ns*	ns*	ns*	- 0,38	ns*

* ns = nicht signifikant, SP= Schnittpunkt, HMZ = Herzmuskelzelle, V_v= Volumendichte

Statistisch signifikante Korrelationen zwischen den demographischen Daten (Tabelle 4 a und 4 b), sowie dem Zeitpunkt der angiographischen Diagnose der TVP nach HTx (siehe auch Anlage 3) und dem Ausmaß der Proliferation der SMCs konnten nicht nachgewiesen werden.

6. 5. Hämalan Eosin-Färbungen

Es konnten alle histologischen Schnitte der HE-Färbungen histomorphometrisch ausgewertet werden. Nicht selten konnten schon in der ersten Biopsie degenerative Veränderungen der HMZ in Form von Vakuolisierung, Karyorrhesis, Karyomegalie und pathologischen Kernfiguren beobachtet werden. Perivaskuläre und interstitielle Entzündungsinfiltrate sowie Myozytennekrosen waren je nach Rejektionsgrad anzutreffen.

Es konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede bezüglich der Fläche, der Anschnittdichte und der Hypertrophie der Herzmuskelzellen (HMZ) zwischen beiden Gruppen festgestellt werden. Ebenso änderten sich während des gesamten Untersuchungszeitraumes diese Parameter in keiner der beiden Gruppen entscheidend (Tabelle 24 a-c).

Tabelle 24 a Morphometrische Untersuchungsergebnisse der Flächen der HMZ

	TVP-Gruppe	Kontrollgruppe	Mann-Whitney-Test
Monate nach HTx	A _{HMZ} / μm^2 (\bar{x} +/- sd)	A _{HMZ} / μm^2 (\bar{x} +/- sd)	Signifikanz (p < 0,05)
1	2212+/- 420,3	2165+/- 619,7	ns*
2	2116+/- 467,6	1878+/- 395,3	ns*
3	2115+/- 537,5	2040+/- 415,6	ns*
5	2037+/- 420,5	1951+/- 439,6	ns*
8	2155+/- 330,4	2007+/- 611,9	ns*
11	2118+/- 464,7	2043+/- 382,8	ns*
14	1994+/- 373,3	2010+/- 455,4	ns*
Friedmann-Test Signifikanz (p < 0,05)	ns*	ns*	

* ns = nicht signifikant, HMZ= Herzmuskelzelle, \bar{x} = Mittelwert, sd = Standardabweichung

Tabelle 24 b Morphometrische Untersuchungsergebnisse der Anschnittdichten der HMZ

	TVP-Gruppe	Kontrollgruppe	Mann-Whitney-Test
Monate nach HTx	HMZ/ mm^2 (\bar{x} +/- sd)	HMZ/ mm^2 (\bar{x} +/- sd)	Signifikanz (p < 0,05)
1	397+/- 61,8	420+/- 102,6	ns*
2	411+/- 86,5	464+/- 93,6	ns*
3	411+/- 108,0	434+/- 86,7	ns*
5	423+/- 81,0	451+/- 85,6	ns*
8	404+/- 67,8	465+/- 128,8	ns*
11	426+/- 84,3	432+/- 77,9	ns*
14	445+/- 78,0	446+/- 106,5	ns*
Friedmann-Test Signifikanz (p < 0,05)	ns*	ns*	

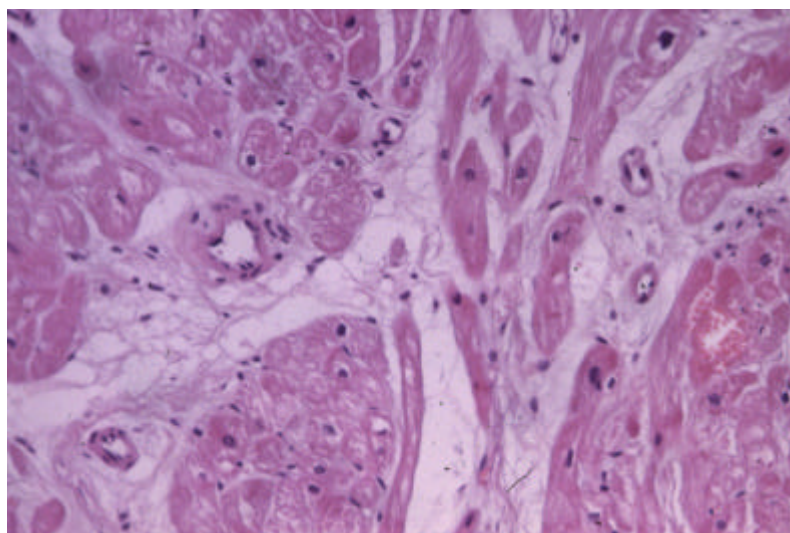
* ns = nicht signifikant, HMZ= Herzmuskelzelle, \bar{x} = Mittelwert, sd = Standardabweichung

Tabelle 24 c Morphometrische Untersuchungsergebnisse bezüglich der Hypertrophie der HMZ

	TVP-Gruppe	Kontrollgruppe	Mann-Whitney-Test
Monate nach HTx	HF von HMZ (\bar{x} +/- sd)	HF von HMZ (\bar{x} +/- sd)	Signifikanz ($p < 0,05$)
1	6+/- 1,1	6+/-1,5	ns*
2	6+/- 1,4	5+/- 1,0	ns*
3	6+/- 1,6	5+/- 1,0	ns*
5	6+/- 1,5	5+/- 1,2	ns*
8	6+/- 1,2	5+/- 1,6	ns*
11	6+/- 1,5	5+/- 1,0	ns*
14	5+/- 1,1	5+/- 1,2	ns*
Friedmann-Test Signifikanz ($p < 0,05$)	ns*	ns*	

* ns = nicht signifikant, HF = Hypertrophiefaktor, HMZ= Herzmuskelzelle,
 \bar{x} = Mittelwert, sd = Standardabweichung

Die folgenden Abbildungen dienen als Beispiele für das Färbeverhalten von rechtsventrikulären Herzmuskelbiopsien als Ausdruck des Expressionsverhaltens der in ihnen dargestellten anatomischen Strukturen.

**Abbildung 6** Histologischer Schnitt einer rechtsventrikulären Herzmuskelbiopsie in HE-Färbung

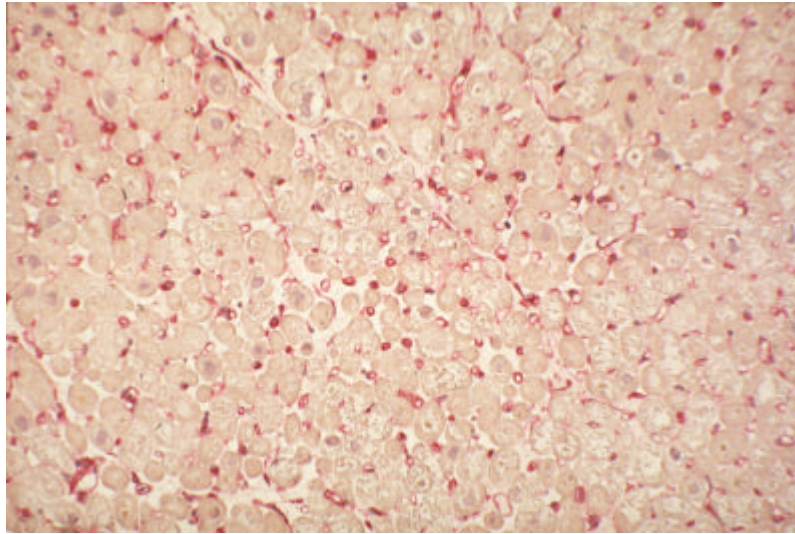


Abbildung 7 Immunhistochemische Färbung einer rechtsventrikulären Herzmuskelbiopsie mit CD 31

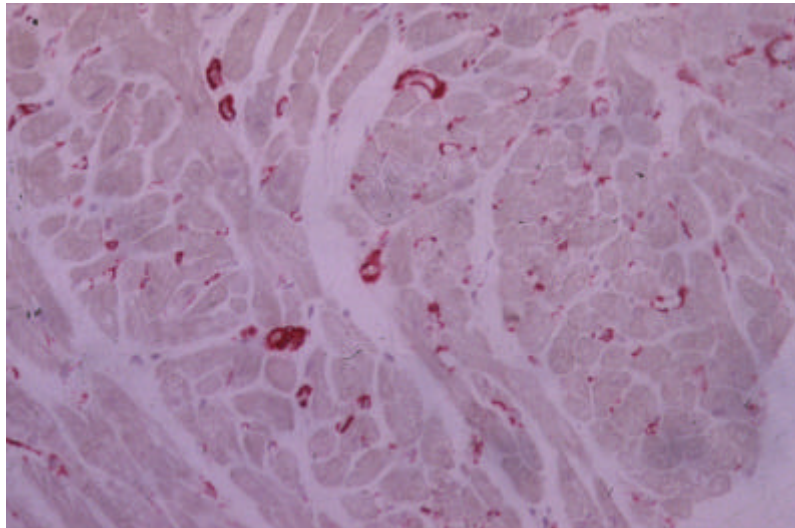


Abbildung 8 Immunhistochemische Färbung einer rechtsventrikulären Herzmuskelbiopsie eines TVP-Patienten mit α -Aktin

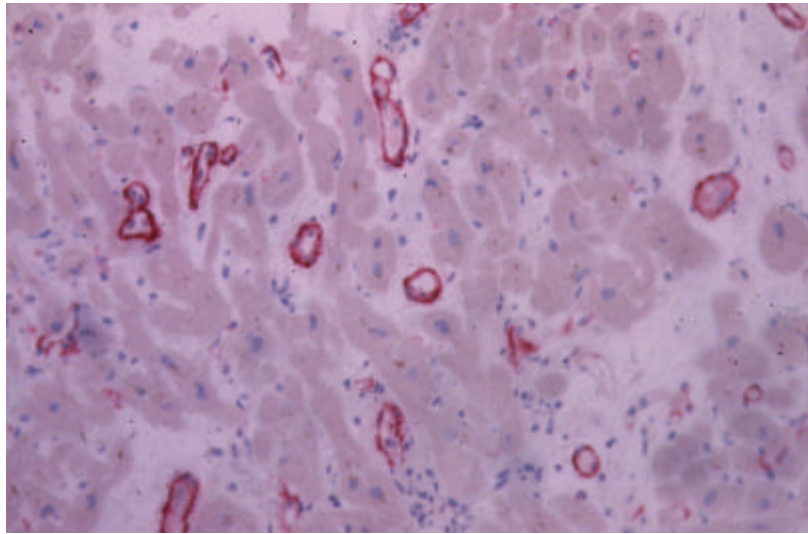


Abbildung 9 Immunhistochemische Färbung einer rechtsventrikulären Herzmuskelbiopsie eines Kontrollpatienten mit α -Aktin

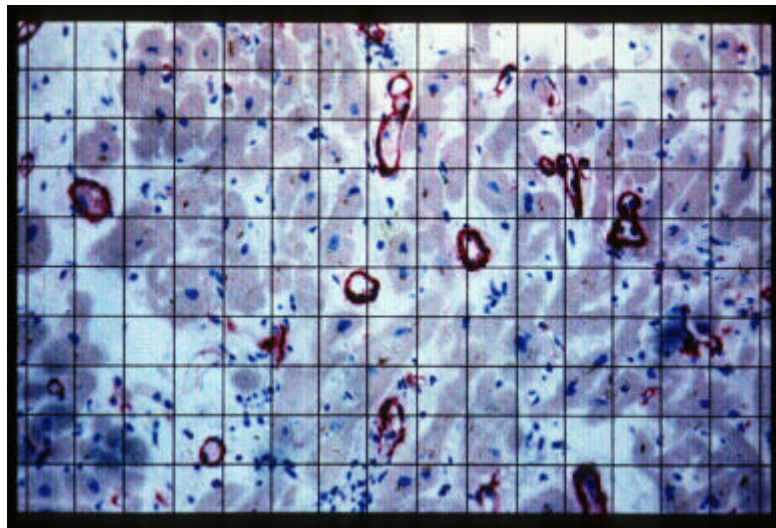


Abbildung 10 Darstellung des verwendeten NetZRasters in einer rechtsventrikulären Herzmuskelbiopsie (α -Aktin)

7. Diskussion

7.1. Diskussion von Material und Methodik

In dieser Studie wurden rechtsventrikuläre Rejektionskontrollbiopsien von 41 herztransplantierten Patienten ausgewertet, die aus einer Gesamtpopulation von 971 HTx-Patienten ausgewählt wurden. Die Patienten entsprachen den in Kapitel 4 zu Grunde gelegten Kriterien, die für diese Untersuchung bestimmt wurden. Die Gesamtgruppe wurde anhand ihrer Koronarangiographiebefunde in eine TVP- und Kontrollpopulation unterteilt. Die in Anwendung gebrachten Auswahlkriterien wurden streng eingehalten, obwohl damit das Risiko einer kleinen Beobachtungspopulation gegeben war. Die Gruppenanzahl erreichte trotzdem eine ausreichende Größe, die eine statistische Prüfung der Ergebnisse ermöglichte. Andererseits wurde dadurch auch der meßtechnische Aufwand limitiert. Um beide Gruppen im Hinblick auf die Fragestellung nach einer TVP vergleichen zu können, durfte es zwischen diesen keine demographischen Unterschiede geben.

Wird die beobachtete Population anhand der vorliegenden Koronarangiographiebefunde in eine TVP- und Kontrollgruppe unterteilt, so fanden sich keine statistisch signifikanten Unterschiede bezüglich des Alters bei HTx, der Überlebenszeit mit Transplantat, des Alters bei Exitus letalis, der Ischämiezeit, der Reperusionszeit und des Spenderalters. Somit war eine Vergleichbarkeit der beiden Populationen gegeben. Eine Altersinzidenz wird auch in der Literatur mehrfach verneint (10, 12, 18, 70, 85, 94). Im Gegensatz zu den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit stehen die Beobachtungen von Ardehali et al. (4) und Day et al. (23), die eine verlängerte Ischämie- bzw. Reperusionszeit als kausalpathogenetische Faktoren in der Entwicklung einer TVP diskutieren. Die Assoziation der TVP mit einem erhöhten Spenderalter kann von Gao et al. (38) und Costanzo et al. (21) gezeigt werden, obwohl andere Forscher einen solchen Zusammenhang nicht nachweisen können (94).

Ebenso konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen bezüglich der HTx-Indikation, der Azathioprin-, Cyclosporin- und Prednisolontherapie, dem Spendergeschlecht, dem CMV- (Zytomegalievirus) Status des Spenders und Empfängers sowie dem HLA- (Human Leucocyte-Antigen) Matching festgestellt werden. Auf die Entwicklung einer TVP in Assoziation mit einer bestehenden Zytomegalievirus- (CMV) Infektion wird mehrfach hingewiesen (8, 61, 69, 70), während Russell et al. (94) jedoch einen solchen Zusammenhang negieren. Die Unabhängigkeit dieser vaskulären Veränderungen von demographischen Charakteristika wie HTx-Indikation, Spender- und Empfängergeschlecht sowie dem Schema der Immunsuppression ist ebenfalls beobachtet worden (10, 94). Diese wie auch die vorliegenden Ergebnisse stehen im Kontrast zu denen von Addonizio et al. (1), die in ihren Untersuchungen eine Assoziation der TVP mit einem erniedrigten immunsuppressiven Regimen beschreiben. Das Ergebnis einer erhöhten Anzahl von HLA-Mismatchen in Assoziation mit dem Schweregrad der TVP (102) kann mit der vorliegenden Studie nicht belegt werden und geht konform mit den Beobachtungen von Pucci et al. (88) und Hosenpud et al. (51). Da in dieser Arbeit die zur Anwendung gebrachten Kardioplegielösungen nicht berücksichtigt werden konnten, sind hierzu keine Aussagen möglich (80).

Die Aufteilung des Gesamtkollektivs in eine TVP- und Kontrollgruppe stützte sich neben den Befunden der jährlichen Herzkatheteruntersuchungen auch auf die Sektionsprotokolle. Letzteres erfolgte auf dem Hintergrund, daß die selektive Koronarangiographie als insensitiv im Hinblick auf die Fragestellung nach einer TVP eingestuft wird (29, 53, 55, 64, 87, 101) und somit die angiographische Diagnose einer TVP bzw. die Abwesenheit angiographischer Hinweise auf das Bestehen einer TVP zusätzlich durch ein Autopsieprotokoll verifiziert werden sollten. Wie aus Anlage 3 und 4 zu ersehen ist, wurden von den 41 untersuchten Patienten nur sieben obduziert. Die Obduktionsbefunde wichen bezüglich der Bewertung der Koronararterien nicht von den Befunden der Linksherzkatheter ab. Jedoch wurden von den zwei autopsierten Kontrollpatienten die Koronararterien nur makroskopisch bewertet. Außerdem ist zu einer umfassenden Beurteilung der Koronararterien die Präparation aller Gefäße in ihrer gesamten Länge notwendig. In Anbetracht der Insensitivität der selektiven Koronarangiographie bezüglich der Diagnose einer TVP (29, 53, 55, 64, 87, 101) ist die niedrige Sektionsfrequenz innerhalb der untersuchten Gruppen mangelhaft. Die Möglichkeit einer fehlerhaften Gruppenzuteilung der Patienten aufgrund ‚falsch negativer‘ Koronarangiographiebefunde ist daher nicht auszuschließen.

Der Zeitpunkt, die Anzahl und der Schweregrad der akuten Rejektionsepisoden sowie die vaskuläre Reaktion wurden bewußt nicht als Auswahlkriterien gewählt, weil die Literatur zu dieser Problematik ausgesprochen widersprüchlich ist (60, 68, 70, 85, 88, 90, 108, 116).

Die Auswertung aller zellulären Rejektionen erfolgte unter Verwendung der ISHLT-Klassifikation (9) und ihrer Ergänzung (s. auch Kapitel 2.4.). Bei Zusammenfassung einzelner Abstoßungsgrade zu Gruppen zeigte sich eine Häufung milder Rejektionsepisoden während des zweiten und dritten Monats nach HTx bei Patienten mit angiographisch nachweisbaren vaskulären Veränderungen. Auch in dieser Studie besteht die Problematik bei der Untersuchung einer Assoziation der TVP mit akuten Rejektionsepisoden darin, daß die Studie retrospektiv erfolgte und nur eine geringe Anzahl von Patienten verfügbar waren (47). In der Literatur werden sowohl Zusammenhänge mit schweren akuten Abstoßungsepisoden (68, 70, 90, 108) als auch eine Koinzidenz mit milden Rejektionen (60, 116) beschrieben. Daneben weisen andere Berichte auf eine Unabhängigkeit dieses Krankheitsprozesses von dem individuellen Abstoßungsgeschehen hin (85, 88).

In der vorliegenden Arbeit wurde die vaskuläre Reaktion (s. auch Kapitel 2.4.) gesondert untersucht. Da sich für die TVP-Gruppe nur im fünften Monat nach HTx ein signifikant größerer Wanddurchmesser im Vergleich mit der Kontrollgruppe ergab, ist somit anhand der selektiven Betrachtung dieses Parameters eine eindeutige Diagnose der TVP nicht möglich.

Das Ausmaß der Endothelzell (EZ)-schwellung war bei der TVP-Gruppe im dritten, vierten und elften Monat nach HTx signifikant stärker ausgeprägt und deutet sich als Charakteristikum für diese Gruppe an. Ein solcher Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der vaskulären Reaktion und der Existenz einer TVP ist in der Literatur ebenfalls von Dilley et al. (26), Hammond et al. (45) und Hosenpud et al. (52) beschrieben. Die vermehrte EZ-Zellschwellung bei TVP-Patienten könnte ein Hinweis auf eine Schädigung des Endothels sein. Diese Hypothese wird von den Beobachtungen der Unterschiede im qualitativen Färbeverhalten mit CD 31 zwischen beiden Gruppen unterstützt. Während in der Kontrollgruppe die Blutgefäßwände klar abgrenzbar waren, zeigten sich diese in der TVP-Gruppe als unscharf begrenzt und verwaschen. Letzteres könnte aber auch ein Hinweis auf unterschiedliche Funktionszustände der Zellen sein. Die Hypothese der EZ-Schädigung wird durch die Beobachtung unterstützt, daß EZ in vitro einen heparinähnlichen Inhibitor des SMC-Wachstums produzieren (16, 17). Somit würde ein Verlust oder eine Schädigung der EZ die Progression einer TVP als proliferative Erkrankung vaskulärer SMCs vorantreiben. Im Gegensatz zu der vaskulären Reaktion stellt sich die zelluläre, akute Rejektion als myozytenassoziierte Veränderung (Nekrose) dar, die mit einem Umbau in der Myokardarchitektur verbunden ist. Die ausschließlich vaskulär orientierte und dabei überwiegend proliferativ verlaufende Form der Auseinandersetzung mit dem Transplantat (vaskuläre Reaktion) wird durch ihre ischämisch bedingte Folgen im Biopat sichtbar. Diese beiden Rejektionsformen können auch in Kombination auftreten, wobei eine mögliche Bedingtheit existiert.

Im Zusammenhang mit der TVP findet auch der Begriff der „chronischen Rejektion“ Verwendung. Aziz et al. (5) charakterisieren die „chronische Rejektion“ als einen diffusen, lumenverengenden Prozeß der Arterien in Allograften, der mit zellulären Infiltraten und Fibrose einhergeht und in organspezifischen Läsionen mündet. Anhand ihres verwendeten Tiermodells sind SMCs 40 Tage nach HTx in der verdickten Intima nachweisbar. Libby et al. (65) beschreiben mit dem Begriff der „chronischen Rejektion“ eine arteriosklerotische Obstruktion der Koronararterien in transplantierten Herzen, deren mögliche Pathogenese auf einer Immunreaktion Typ IV beruht. Der genaue Zeitpunkt des Beginns dieser vaskulären Veränderungen bleibt jedoch offen. Ähnliches bezüglich der offenen Zeitangabe findet sich bei Reinsmoen et al. (92), die diesen Prozeß als Koronararterienerkrankung bezeichnen, der sich in Veränderungen der Gefäßlumina im jährlich durchgeführten Koronarangiogramm manifestiert. Die TVP oder die „chronische Rejektion“ können beide in der frühen postoperativen Phase nach HTx auftreten und bei beiden Formen der vaskulären Veränderungen kommt es gehäuft zu Ischämiekrisen. Eine Distanzierung von dem Begriff der „chronischen Rejektion“ ist jedoch berechtigt, da er einerseits einen langsamen Verlauf suggeriert und andererseits inhaltlich an ein ausschließlich immunologisches Geschehen bzw. an morphologische Zeichen von andauernden Abstoßungsprozessen geknüpft ist. Da jedoch der Einfluß des immunologischen Konfliktes mit dem Transplantat in Form von Abstoßungsreaktionen (60, 68, 70, 85, 90, 108, 116), zirkulierenden Antikörpern (22, 30, 47) und der von nichtimmunologischen

kausalpathogenetischen Faktoren (7, 28, 32, 33, 43, 79, 89) auf die Inzidenz und Progredienz der TVP umstritten ist, ist die Bezeichnung „chronische Rejektion“ unzutreffend. Des weiteren bleibt auch die Frage offen, ob sich die TVP in einem „steady state“ stabilisieren kann oder ob sie immer eine Progression zeigt.

Immunhistochemische Färbemethoden sind etablierte Routineverfahren (67), die hauptsächlich aus der onkologischen Diagnostik bekannt sind. Diese Methode wird ebenfalls mit einer Auswahl von Antikörpern als Zusatzuntersuchung an routinemäßig entnommenen rechtsventrikulären Kontrollbiopsien herztransplantierten Patienten am Deutschen Herzzentrum Berlin praktiziert. Da die EMB als sicheres und akkurates Instrument für die Erkennung einer Abstoßungsreaktion gilt (27, 41, 93, 105) und dieses Verfahren ohne eine zusätzliche invasive Untersuchung der Patienten durchführbar ist, ist es berechtigt, diese Methode im Hinblick auf eine mögliche Bedeutung für die frühzeitige Diagnose einer TVP nach HTx zu prüfen. Auf die Möglichkeit einer Frühdiagnose der TVP nach HTx anhand von Herzmuskelbiopsien ist bisher nur in einigen Berichten hingewiesen worden (13, 83, 86).

Die immunhistochemische Aufbereitung aller Präparate erfolgte nach dem gleichen Standard. Alle ausgewählten histologischen Schnitte wiesen eine positive Reaktion mit dem entsprechenden Antikörper (Ak) auf und es konnten ebenso alle immunhistochemischen und HE-Präparate histomorphometrisch ausgewertet werden. Die Reproduzierbarkeit der Färbequalität war von der Größe der einzelnen Biopsie unabhängig. Dieses läßt die Folgerung zu, daß bei gleichem Standard vergleichbare Ergebnisse in einer Beobachtungspopulation erzielt werden können. Beruhend auf Unterschieden in der Durchführung immunhistochemischer Färbemethoden zwischen verschiedenen Instituten, ist eine Vergleichbarkeit von Ergebnissen jedoch aufgrund z.B. verschiedener Verarbeitungstechniken oder Fixationszeiten mit ihrem modifizierenden Einfluß auf die Färbequalität nur unter Vorbehalt zu betrachten.

Für die Auswertung der histologischen Schnitte wurde die manuelle morphometrische Auswertung der Zielstrukturen unter strenger Wahrung morphometrischer Meßprinzipien gewählt. Die bisher vorliegenden computergestützten Bildanalysesysteme sind für die Durchführung solcher Untersuchungen nicht trennscharf genug bzw. erfordern eine manuelle Nachbesserung. Die Genauigkeit und die Fehlerabschätzung dieser Methoden, wie auch das Verfahren der mikroskopischen Schätzung, werden in der Literatur diskutiert, wobei der quantitativen mikroskopischen Histomorphometrie gewisse Vorzüge eingeräumt werden (67). Trotzdem ist dieses Verfahren von verschiedenen Faktoren beeinflusst, denn es obliegt dem Untersucher die Anzahl und die ‚Zufälligkeit‘ der bewerteten Gesichtsfelder (GF) zu bestimmen. Zwar wurden letztere nach dem Prinzip der „random fields“ ausgewählt, jedoch wurden auch nur solche GF bewertet, in denen die Myokardarchitektur erhalten war. Diese erwies sich in einigen Biopsien als stark gestört, so daß nur eine kleine Anzahl verwertbarer GF mit einer ausreichenden Testfeldgröße (mindestens 75 Punkte des NetZRasters) der mikroskopischen Analyse zur Verfügung standen. Die Ermittlung eines optimalen Stichprobenmeßumfanges war auch deshalb nicht möglich, weil dieser ebenso durch die Größe der Biopsie bestimmt ist. Es wurde angestrebt, die Biopsien vollständig mit mindestens 10 GF zu vermessen, jedoch war bei einem histologischen Schnitt aufgrund des geringen Materials nur die Bewertung von 8 GF möglich. Die o.g. Einschränkungen tragen u.a. dazu bei, daß die Reproduzierbarkeit dieser Methode von einigen Autoren mit Vorsicht behandelt wird (118).

Des weiteren wurde anhand des Mittelwertes der je GF ausgezählten Blutgefäße die Anzahl der antikörper-(Ak) tragenden Blutgefäße auf die Fläche eines mm^2 umgerechnet. Alternativ dazu wäre die Auszählung eines mm^2 für jede Biopsie möglich gewesen. Dieses war jedoch aufgrund der z.T. sehr schwankenden Probengrößen nicht durchführbar.

Die Lokalisation der Antigen-Ak-Reaktion erwies sich im Hinblick auf die Anatomie des Myokards als den Erwartungen entsprechend und es fanden keine Kreuzreaktionen zwischen den verwendeten Agenzien und den Herzmuskelzellen (HMZ) oder anderen histologischen Strukturen innerhalb der Biopsien statt. Dabei erfolgte eine Markierung aller Blutgefäße mit Hilfe des immunhistochemischen Markers CD 31 (105) und die selektive Darstellung der Arteriolen als Blutgefäße mit glatten Muskelzellen (SMCs) mit dem immunhistochemischen Marker α -Aktin (24, 73, 103). Die Anzahl der Kapillaren ergab sich aus der Differenz der CD 31-positiven und α -Aktin-positiven Blutgefäße. Somit wurde die terminale Strombahn als Zielgröße selektiv erfaßt.

7.2. Diskussion der Ergebnisse

Die im Rahmen dieser Arbeit beobachtete Rejektionsdynamik der CD 31-Expression in Form eines Abfalls der Blutgefäßanzahl bei starken Abstoßungen im Vergleich zu negativen Rejektionskontrollen ist auch bei Fetzer et al. (34) beschrieben. Dieses spiegelt möglicherweise die temporäre Schädigung der EZ bei hochgradiger zellulärer Rejektion wider. Die negative Korrelation sowohl der Rejektionsereignisse bis zum dritten Monat nach HTx als auch der EZ-Schwellung mit der Anzahl der CD 31-positiven Blutgefäße unterstützen diese Hypothese. Der Anstieg der Anzahl CD 31-positiver Blutgefäße bei milder fokaler Abstoßung im Vergleich zu minimaler Rejektion in der TVP-Gruppe könnte Ausdruck eines „On-Off-Phänomens“ von normalerweise verschlossenen Kapillaren sein. In der Literatur wird dieses als Ausdruck eines intensiven entzündlichen Geschehens (Vaskulitis) und als typisch für die TVP bewertet (45, 46).

Es fanden sich keine Korrelationen zwischen den berechneten Parametern der CD 31-Färbungen und dem Ausmaß der Wandverdickungen als Ausdruck einer vermehrten Proliferation von SMCs. Daher liegt die Schlußfolgerung nahe, daß die EZ selbst nicht in Form einer vermehrten proliferativen Aktivität an diesem Prozeß beteiligt sind, diesen wohl aber vermitteln können (65, 89, 97).

Die Gesamtanzahl der Blutgefäße änderte sich während des gesamten Beobachtungszeitraumes nicht und scheidet somit als Einflußfaktor in einer der beiden Gruppen aus. Es ließen sich auch keine Unterschiede bezüglich der Fläche, der Anschnittdichte und der Hypertrophie der HMZ zwischen beiden Gruppen feststellen. Da sich diese Parameter während des gesamten Untersuchungszeitraumes in keiner der beiden Gruppen entscheidend änderten, scheidet eine Hypertrophie oder ein Verlust an HMZ ebenso als Einflußfaktor in einer Gruppe aus.

In der vorliegenden Studie finden sich keine Hinweise auf eine Proliferation der Intima. Dieses widerspricht den Beobachtungen anderer Forscher, die die Manifestation einer TVP als Volumenzunahme der Intima postulieren (3, 8, 10, 11, 12, 13, 18, 24, 37, 53, 55, 56, 59, 61, 68, 83, 86, 88, 107, 109, 114). Da sich die Anzahl der CD 31-positiven Gefäße und die Anzahl der Kapillaren nicht signifikant zwischen beiden Gruppen unterschieden, besitzen sie bei der Fragestellung nach der Entwicklung bzw. der Existenz einer TVP keine Aussagekraft. Die Standardabweichung dieser Größen war jedoch deutlich geringer in der Kontrollgruppe als in der TVP-Gruppe, so daß dieses ein mögliches Bewertungskriterium darstellen könnte. Die große Streubreite der ermittelten Werte ist als Ausdruck der individuellen Reaktionsbreite zu werten.

Für die Veränderungen in der Anzahl der CD 31-positiven Blutgefäße erwies sich keiner der demographischen Charakteristika, die von den Patienten erfaßt werden konnten, als prädisponierender Faktor.

Die Anzahl der α -Aktin-positiven Blutgefäße veränderte sich – im Gegensatz zu den CD 31-positiven Blutgefäßen – bei verschiedenen Graden der Rejektion nicht. Dieses ist insofern interessant, als daß im Rahmen der immunologischen Auseinandersetzung des Empfängers mit dem Transplantat ein vermehrtes Auftreten immunkompetenter Zellen wie Makrophagen (54, 95) und deren Sekretionsprodukten wie PDGF (Platelet Derived Growth Factor) (98, 111), TNF- α (Tumor Necrosis Factor- α) (66, 111), TGF (Transforming Growth Factor) (111, 114) und FGF (Fibroblast Growth Factor) (89, 111) zu beobachten ist, welche potente SMC-Mitogene darstellen. Im Tierversuch bewirkte die subkutane Applikation von TGF-1 β an Ratten eine floride α -Aktin-Expression in Myofibroblasten sowie eine Erhöhung der Level an α -Aktin-mRNA (25). Desmouliere et al. (25) postulieren daher für TGF-1 β eine wichtige Rolle bei fibrokontraktiven Erkrankungen durch die Regulation der α -Aktin-Expression. Auch Libby et al. (65) konnten im Tierexperiment eine Assoziation von akuten Rejektionsepisoden mit einer vermehrten proliferativen Aktivität der SMCs in der Media von Koronararterien zeigen. Die immunologisch bedingte Proliferation der vaskulären SMCs läßt sich jedoch durch eine positive Korrelation der Anzahl der α -Aktin-positiven Blutgefäße während aller Erhebungsintervalle mit der Rejektionsfrequenz im zweiten und dritten Monat nach HTx demonstrieren. Hier findet sich, wie oben schon erwähnt, eine Häufung milder Abstoßungsreaktionen in der TVP-Gruppe. Auf eine Assoziation der TVP mit frühen Rejektionsepisoden wird in der Literatur hingewiesen (60, 116). Des weiteren ist auch die Annahme

zulässig, daß sich die Proliferation der SMCs erst nach Latenzzeit im Anschluß an vorausgehende Rejektionen manifestiert. Dieses wird auch von Tanaka et al. (103) vermutet.

Die Anzahl α -Aktin-positiver Blutgefäße korrelierte im frühen postoperativen Verlauf nur schwach positiv mit dem Ausmaß der EZ-Schwellung. Diese positive Korrelation war erst im 11. Monat nach HTx stärker ausgeprägt. Dieses könnte als ein weiterer Hinweis auf die Entwicklung einer TVP in Abhängigkeit von einer Schädigung des Endothels bzw. aufgrund spezifischer Interaktionen zwischen EZ und SMCs gewertet werden. Letzterer Pathomechanismus wird ebenso von anderen Forschern angenommen (79, 97). Es wäre aber auch denkbar, daß die vorliegenden Beobachtungen eine endotheliale Dysfunktion als frühe, möglicherweise reversible Manifestation der TVP widerspiegeln (111). Die Proliferation von SMCs scheint sich demnach im Gefolge von Veränderungen an EZ mit einer Latenz zu entwickeln.

Das Ausmaß der Wandverdickungen in HE korrelierte im späteren postoperativen Verlauf positiv mit der Proliferation von SMCs in der frühen Phase nach HTx. Somit stellt sich die histomorphometrische Auswertung als sensitiver in der Bewertung der frühen Veränderungen der intramuralen Koronararterienäste dar als die ausschließliche Betrachtung der Veränderungen in einer HE-Färbung.

In dieser Studie war bei allen transplantierten Patienten eine Zunahme von α -Aktin-tragenden Blutgefäßanschnitten zu beobachten, wobei deren stärkster Anstieg in den ersten 3 Monaten nach HTx nachzuweisen war. Diese Beobachtung von vaskulären Veränderungen bei allen HTx-Patienten ist auch von Gao et al. (39) und Johnson et al. (56) beschrieben. Die Proliferation von SMCs in intramyokardialen Blutgefäßen von Herztransplantaten ist anscheinend ein mit der HTx einhergehendes biologisches Phänomen, wobei die Bedingungen, unter denen dieser Prozeß einen Krankheitswert entwickelt, nicht bekannt sind. Trotz der erheblichen Streubreite fanden sich die Mittelwerte der TVP-Gruppe oberhalb der Grenze von 100 Arteriolen/ mm², während die Anzahl der Arteriolen bei der Kontrollgruppe immer unter dieser blieb. Diese Unterschiede der quantitativen Morphologie intramyokardialer Blutgefäße waren, wenn der angiographische Befund zugrundegelegt wurde, signifikant zwischen beiden Gruppen. Da ausschließlich Endomyokardproben aus dem rechten Ventrikel untersucht wurden und keine Angaben über die genaue Lokalisation des Entnahmeortes verfügbar waren, muß aufgrund der großen Streuungen der berechneten Werte die Frage nach der Art des Vorkommens – ob regional oder diffus – offen bleiben. Die große Streubreite könnte jedoch auch Ausdruck eines Versagens der Regulationsmechanismen sein, die ein „steady state“ dieser transplantatbedingten Blutgefäßveränderungen gewährleisten. Bei der Betrachtung der einzelnen Patienten stellten sich im Rahmen der Beurteilung der Zeitverläufe erhebliche Unterschiede heraus, die zumindest den Gedanken nahelegen, daß diese Veränderungen nicht statisch sind sondern sich durchaus durch eine ständige Dynamik auszeichnen können. Die Entwicklung einer TVP wird anscheinend innerhalb von drei Monaten nach HTx determiniert. Die Zunahme an α -Aktin-positiven Blutgefäßen ist in der frühen postoperativen Phase ein stetig progredienter Prozeß, dessen Intensität sich jenseits des 3. postoperativen Monats abschwächt und anschließend ein Plateau ausbildet. Erfolgt der Vergleich der Anzahl α -Aktin-positiver Blutgefäße aus angrenzenden Beobachtungseinheiten, so läßt sich dieser Proliferationsprozeß bis zum achten Monat nach HTx verfolgen. Eine TVP könnte aber auch erst später auftreten, da sich die Untersuchungen dieser Arbeit auf den Zeitraum von 14 Monaten nach HTx beschränkten. Die Bedingungen für eine späte Manifestation der TVP sind jedoch nicht bekannt. Die heterogene Verteilung der TVP (68) und ihr Befall sowohl der epikardialen (3, 5, 8, 10, 11, 12, 13, 18, 24, 37, 53, 55, 56, 59, 61, 68, 83, 86, 88, 107, 109, 114) als auch der intramuralen arteriellen Blutgefäße (3, 5, 10, 11, 12, 13, 18, 53, 56, 61, 68, 83, 86, 88, 114) ist in der Literatur mehrfach beschrieben. Demetris et al. (24) und Gao et al. (37) konnten jedoch keine morphologischen Veränderungen des arteriellen Blutgefäßsystems im Myokard herztransplantierten Patienten nachweisen. Auf eine mögliche Reversibilität der TVP oder zumindest zeitweilige Remissionsphasen der Proliferation von SMCs im Rahmen einer TVP ist trotz intensiver Literaturrecherche kein Hinweis gefunden worden. Lediglich Vassalli et al. (111), die eine endotheliale Dysfunktion als frühe Manifestation einer TVP betrachten, räumen eine mögliche Reversibilität in diesem Stadium ein. Blum et al. (14) schließen jedoch eine solche Möglichkeit aus. Die Aussage über eine Reversibilität der Proliferationsprozesse im Rahmen einer TVP bedarf sowohl einer chronologischen Betrachtung des Untersuchungsmaterials als auch die Verwendung eines hinreichend sensitiven Testverfahrens. Die vorliegende Arbeit ist nach intensivem Studium der Literatur die erste Studie, die mit Hilfe

immunhistochemischer Färbemethoden intramyokardiale Blutgefäße rechtsventrikulärer Herzmuskelbiopsien von HTx-Patienten systematisch und selektiv im ersten Jahr nach Transplantation im Hinblick auf die Fragestellung nach einer TVP bewertet hat.

In der Literatur wird das Auftreten einer TVP in Venen von Hosenpud et al. (53), Liu et al. (68) und Weis et al. (114) beschrieben. Dieses Phänomen wird jedoch von Billingham (13) und Gao et al. (37) verneint. Aufgrund methodischer Schwierigkeiten ist anhand der vorliegenden Arbeit keine Aussage über einen Mitbefall des venösen Schenkels möglich, der jedoch nicht auszuschließen ist. Die Morphologie des venösen Systems (15) ist dadurch gekennzeichnet, daß die Wand von Venen nicht nur dünner, sondern auch lockerer gebaut ist als die von Arterien. Zudem spielen in der Venenwand besonders die kollagenen Fasern eine größere Rolle, während bei den Arterien des muskulären Typs die SMCs überwiegen. Daher erscheint die Involvierung von Venen als wenig wahrscheinlich, denn aufgrund der Ergebnisse dieser Arbeit besteht das morphologische Korrelat der TVP in einer Proliferation von SMCs, die in Venen nur in einer geringen Anzahl vorhanden sind. Außerdem wäre die Manifestation einer TVP in Venen aufgrunddessen auch hämodynamisch kaum entscheidend.

Die quantitative Zunahme von α -Aktin-positiven Gefäßen läßt sich durch zwei unterschiedliche Phänomene charakterisieren. Einerseits war eine Proliferation von SMCs in bereits existenten Arteriolen mit selektiver Verbreiterung der Media zu beobachten und andererseits erfolgte eine Umwandlung von Kapillaren zu Arteriolen. Die frühe postoperative Proliferation von SMCs in bereits präexistenten Arteriolen sowie der morphologische Switch von Kapillaren zu α -Aktin-positiven Blutgefäßen ist als frühe Transformation der terminalen Strombahn aufzufassen. Diese Befunde in Assoziation mit einer TVP beim Menschen wurden trotz intensiver Literaturrecherche weder jeder für sich noch in Kombination beschrieben. Es finden sich lediglich Berichte darüber, daß SMCs in die Intima migrieren (5) bzw. innerhalb der verbreiterten Intima nachweisbar sind (10, 12, 13, 18, 53, 56, 83). Die Media soll im Rahmen der Intimaproliferation nicht betroffen (10, 88) oder sogar verdünnt sein (3, 13, 24, 114). Nur Hosenpud et al. (51) weisen auf eine „SMC-stimulierende Aktivität“ in der Media in Form einer Erhöhung der mRNA bestimmter Wachstumsfaktoren hin. Daneben beschreiben Tanaka et al. (103) eine frühe proliferative Aktivität der SMCs in der Media, die den intimalen Veränderungen vorangehen. Diese Beobachtungen (103) sind jedoch auf tierexperimentelle Untersuchungen zurückzuführen. Zwar beschreiben Faulk et al. (33) α -Aktin-positive Blutgefäße, deren Gefäßkaliber den von Kapillaren entsprechen und deren Endothelzellen (EZ) Oberflächenmarker von Venen exprimieren, erläutern jedoch dieses Phänomen nicht weiter. Daß Kapillaren zu Arterien und Venen weiterdifferenzieren können, ist aus Untersuchungen zur Ausbildung von Kollateralkreisläufen in verschiedenen Organen bekannt (15).

Weiterhin läßt sich zeigen, daß die Güte der strukturellen Blutversorgung während des gesamten Untersuchungszeitraumes bei beiden Patientenpopulationen abnahm. Dieser Prozeß war innerhalb der ersten drei Monate nach HTx besonders ausgeprägt, und es stellte sich anschließend ein Plateau ein. Die Abnahme der kapillären Vaskularisation scheint ein Charakteristikum für die Umbauprozesse der terminalen Strombahn nach HTx zu sein, die alle herztransplantierten Patienten betreffen. Von der Verringerung der Kapillardichte waren jedoch die Patienten mit TVP signifikant stärker betroffen als die Kontrollpatienten. Als weitere Gütekriterien der strukturellen Blutversorgung zeigten der Quotient aus der Anschnittsdichte der CD 31-positiven Blutgefäße und der HMZ sowie die Volumendichte der CD 31-positiven Blutgefäße eine negative Korrelation in der frühen postoperativen Phase mit der Anschnittsdichte der Arteriolen im gesamten Beobachtungszeitraum. Mit diesen Parametern kann belegt werden, daß die Zunahme der α -Aktin-positiven Blutgefäße mit einer Verschlechterung der Perfusion des Myokards verbunden ist.

Die positive Korrelation der Gesamtanzahl der Blutgefäße im 1. und 3. Monat nach HTx mit der Anzahl der Arteriolen im gesamten Beobachtungszeitraum spiegelt einerseits die Arteriolen als Teilmenge dieses Pools wider und andererseits unterstreicht sie nochmals die mangelnde Aussagekraft der Anzahl der CD 31-positiven Blutgefäße im Hinblick auf die Fragestellung nach dem Bestehen einer TVP.

Die Pathogenese der TVP bleibt weiterhin umstritten. Es läßt sich jedoch anhand dieser Studie zeigen, daß eine Proliferation von SMCs zu einer Stenosierung der Blutgefäßlumina führt. Die Veränderungen der Anschnittsdichten arterieller Blutgefäße waren bereits 4 Wochen post HTx nachweisbar. Ob sie

jedoch denen in der Koronarangiographie nachweisbaren Befunden vorangingen bleibt offen, da keine Herzkatheterbefunde für diesen Zeitraum vorlagen. Aufgrund der Tatsache, daß in dieser Arbeit enge Beziehungen zwischen den Veränderungen der großen Koronararterien und der kleinen intramyokardialen Blutgefäße bestehen, ist davon auszugehen, daß an diesem Prozeß SMCs aller arteriellen Blutgefäße des Herzens beteiligt sind. Offen muß jedoch bleiben, wie sich dieser Prozeß entwickelt. Die Okklusion der kleinen intramyokardialen Blutgefäßäste hat möglicherweise eine Erhöhung des peripheren Widerstandes zur Folge, so daß die Veränderungen der epikardialen Koronararterien ein sekundäres Phänomen der TVP darstellen. Die unterschiedliche zeitliche Progression (18, 83, 86) bzw. unterschiedliche Ätiologien der TVP in großen und kleinen Gefäßen (18) werden auch von anderen Autoren vermutet. Lin et al. (66) berichten hingegen von einem biologisch und geographisch uniformen Bild dieser vaskulären Veränderungen in proximalen und distalen Gefäßabschnitten. Die Möglichkeit einer frühzeitigen Entwicklung der TVP wird auch von Billingham (12) diskutiert. Anhand von Tiermodellen sind intimale Veränderungen in Form von modifizierten SMCs schon 20 Tage nach HTx nachweisbar (10). Die Beobachtung, daß eine endotheliale Aktivierung kurze Zeit nach HTx erfolgen kann und zwischen mikrovaskulären und epikardialen Koronararterien variieren kann, wird von Tanaka et al. (104) beschrieben. In der vorliegenden Studie fanden sich bei allen Patienten mit einer makrovaskulären Manifestation der TVP auch mikrovaskuläre Veränderungen, welches die Vermutung auf ein mögliche Parallelität dieser beiden Ereignisse zuläßt. Es wird jedoch auch berichtet, daß bei Patienten mit einem Befall der epikardialen Blutgefäße nur ein Drittel dieser Population auch mikrovaskuläre Manifestationen zeigten (112). Von Scheidt et al. (112) schließen daraus, daß die epikardiale und mikrovaskuläre TVP als zwei unterschiedliche und unabhängige Erkrankungen anzusehen sind. Ähnliches berichten Amano et al. (2), die eine prominentere Intimaproliferation in der Aorta und in den großen Koronararterien als in den kleinen intramyokardialen Gefäßen beobachteten.

In der vorliegenden Arbeit ließen sich keine Korrelationen zwischen den morphometrischen Ergebnissen der α -Aktin-Färbungen und den demographischen Daten aus Kapitel 6.1. sowie dem Zeitpunkt der angiographischen Diagnose der TVP (s. auch Anlage 3) nachweisen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen konnten folgende zwei pathogenetische Faktoren nicht klären:

1. Der Auslösemechanismus für diesen zur Ischämie führenden Prozeß bleibt weiterhin spekulativ.
2. Es konnte nicht geklärt werden, wann die Proliferationsteigerung der SMCs Krankheitsbedeutung erlangt.

In Abbildung 11 ist die mögliche Pathogenese der TVP dargestellt, die sich auf die Untersuchungsergebnisse dieser Studie stützt. Durch die Muskularisierung der Kapillaren und die Proliferation von SMCs in bereits präexistenten Arteriolen verkleinert sich der Gesamtquerschnitt der terminalen Strombahn. Diese Prozesse resultieren in einer multiplen Stenosierung der Gefäßlumina und können zu einer vermehrten Ischämie des Myokards führen.

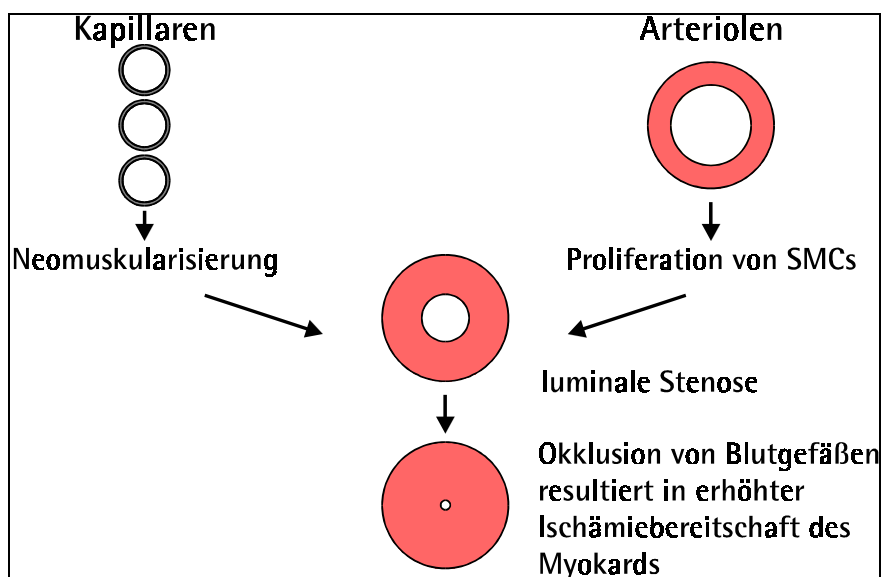


Abbildung 11 Mögliche Pathogenese der TVP mit mikrovaskulärer Beteiligung

Die in den HE-Färbungen beobachteten degenerativen Veränderungen der HMZ in Form von Vakuolisierung, Karyorrhexis, Karyomegalie und pathologischen Kernfiguren können als Folgeerscheinungen dieser Minderperfusion des Myokards angenommen werden. Die fokale und diffuse Ischämie der HMZ durch Okklusion von kleinen Gefäßen stellt sich auch in anderen Berichten als Vakuolisierung von HMZ und Mikroinfarkten dar (83), deren Auftreten nutzbar für die Frühdiagnose vaskulärer Veränderungen und eine angemessene Therapie scheint (83).

In Anlehnung an die Resultate dieser Arbeit und deren Aussagen bezüglich der Pathogenese der TVP ist es berechtigt, diese wie folgt zu definieren:

Die Transplantatvaskulopathie stellt sich als ein Prozeß dar, der mit proliferativen Prozessen der glatten Muskelzellen in allen Gefäßabschnitten beginnt, sich regional unterschiedlich entwickelt und durch Bilder klassischer Arterienveränderungen maskiert werden kann und zur Einschränkung der Koronarreserve führt.

8. Schlußfolgerung

Die morphometrischen Untersuchungen des Myokards der beobachteten Populationen bis zum 14. Monat nach HTx lassen folgende Schlußfolgerungen zu:

- 1) Durch die Herztransplantation werden Veränderungen in arteriellen und kapillären Blutgefäßregionen induziert. Sie sind als biologischer Prozeß zu betrachten, der sich in jedem Transplantat vollzieht.
- 2) In den Transplantaten aller Patienten kommt es zu einer strukturell bedingten Umverteilung einzelner anatomischer Blutgefäßklassen. Die Anschnittdichte der Arteriolen nimmt zu, wobei die Gesamtanschnittdichte der intramyokardialen Blutgefäße konstant bleibt.
- 3) Der Anteil der SMCs in präexistenten Arteriolen nimmt zu. Hinzu kommt, daß offenbar Kapillaren durch die Expression von α -Aktin zu Arteriolen umfunktioniert werden. Die letztendlich kausale Ätiopathogenese dieser Phänomene ist jedoch bisher unbekannt.
- 4) Dieser Prozeß, der durch eine Proliferation von vaskulären SMCs bedingt ist, scheint innerhalb der ersten drei Monate nach HTx abgeschlossen zu sein.
- 5) Gelingt es innerhalb des Transplantates nicht, diese Proliferation von SMCs zu unterbinden, entwickelt sich daraus eine Transplantatvaskulopathie. Es ist anzunehmen, daß dieser Umschlag von einem biologischen Grundprozeß hin zu einer Krankheit in enger Beziehung zur Funktion der EZ steht und daher den EZ eine zentrale Bedeutung bei der Entstehung einer TVP zukommt.
- 6) Erlangen diese vaskulären Veränderungen einen Krankheitswert, dann sollten sie als Transplantatvaskulopathie bezeichnet werden. Der Mechanismus des Qualitätsumschlages ist unbekannt.
- 7) In dieser Arbeit treten frühe, milde Abstoßungsreaktionen vermehrt in der TVP-Gruppe auf.
- 8) Die Veränderungen der intramyokardialen Endstrombahn waren von den in Betracht gezogenen demographischen Charakteristika der Patienten unabhängig.
- 9) Die Frage nach einer Unabhängigkeit zwischen der Manifestation einer TVP in kleinen und großen Blutgefäßen ist nicht beantwortbar, da die hierfür erforderlichen Untersuchungen fehlen.
- 10) Soweit histologische Untersuchungen der großen epikardialen Blutgefäße vorliegen, zeigen diese, daß auch hier eine Proliferation von SMCs beobachtbar ist. Diese führt zum einen zu einer Mediaverdickung und andererseits stellt sie aber auch die Basis der Intimaproliferation dar. Daneben werden auch typische arteriosklerotische Veränderungen beobachtet. Im Einzelfall ist die zeitliche und kausale Determinante nicht zu klären.
- 11) Obwohl eine kausale Therapie bisher unbekannt ist und eine therapeutische Beeinflussung der großen Blutgefäße allein ineffektiv zu sein scheint, ist doch eine frühzeitige Diagnose im Rahmen der Kontrollbiopsien anzustreben. Denn dann könnte durch Ausschaltung bekannter Risikofaktoren die Progression gestoppt bzw. verlangsamt werden.

9. Zusammenfassung

Anhand von immunhistochemischen Färbemethoden wurde die Expression von CD 31 und α -Aktin auf Zellen der intramyokardialen Blutgefäße herztransplantierten Patienten histomorphometrisch ausgewertet. In die Bewertung der myokardialen Strukturen ging auch die Untersuchung der jeweiligen zugehörigen HE-Färbungen mit ein.

Ziel dieser Untersuchungen war die Beurteilung von qualitativen und quantitativen Unterschieden dieser Marker während eines Untersuchungszeitraumes von 14 Monaten nach HTx bei Patienten mit einer angiographisch diagnostizierten Transplantatvaskulopathie (TVP) mit Patienten ohne einer prä- bzw. postmortem diagnostizierten TVP.

Der Einsatz dieser Immunmarker richtete sich hierbei auf die selektive Darstellung der terminalen Strombahn mit der Fragestellung, ob ein intramyokardiales morphologisches Korrelat zu der TVP der epikardialen Blutgefäße existiert und ob die histomorphometrische Auswertung der bewerteten Strukturen eine mögliche Frühdiagnose der TVP nach HTx zulässt. Des weiteren sollte eine mögliche Assoziation der TVP mit den demographischen Charakteristika sowie der Anzahl und dem Schweregrad der Rejektionsepisoden der untersuchten Patienten überprüft werden.

Als Basis dienten dabei in Paraffin eingebettete rechtsventrikuläre Rejektionskontrollbiopsien, die im Rahmen der routinemäßig durchgeführten Abstoßungsdiagnostik entnommenen wurden. Nach morphologischer Bewertung dieser Schnitte im Hinblick auf die Existenz und den Schweregrad einer Abstoßungsreaktion wurden diese immunhistochemisch aufbereitet und anschließend quantitativ ausgewertet.

Im Rahmen dieser Arbeit weist die quantitativ-histomorphometrische Erfassung intramyokardialer Blutgefäße in rechtsventrikulären Rejektionskontrollbiopsien auf die mögliche Frühdiagnose einer TVP nach HTx hin. Dieses Verfahren könnte die zur Zeit verwendeten diagnostischen Methoden ergänzen. Jedoch sind noch weitere prospektive klinische Studien für die Validierung dieser Ergebnisse notwendig.

10. Literaturverzeichnis:

- (1) Addonizio LJ, Hsu DT, Douglas JF, Kichuk MR, Michler RE, Quaegebeur JM, Smith CR, Rose EA: Decreasing Incidence of Coronary Disease in Pediatric Cardiac Transplant Recipients Using Increased Immunosuppression. *Circulation* (1993) **88**: II 224-9
- (2) Amano J, Ishiyama S, Nishikawa T, Tanaka H, Nagai R, Marumo F, Hiroe M: Proliferation of Smooth Muscle Cells in Acute Allograft Vascular Rejection. *J Thorac Cardiovasc Surg* (1997) **113**: 19-25
- (3) Arbustini E, Roberts WC: Morphologic Observations in the Epicardial Coronary Arteries and Their Surroundings Late After Cardiac Transplantation (Allograft Vascular Disease). *Am J Cardiol* (1996) **78**: 814-20
- (4) Ardehali A, Laks H, Drinkwater DC, Kato NS, Permut LC, Grant PW, Aharon AS, Drake TA: Expression of Major Histocompatibility Antigens and Vascular Adhesion Molecules on Human Cardiac Allografts Preserved in University of Wisconsin Solution. *J Heart Lung Transplant* (1993) **12**: 1044-52
- (5) Aziz S, McDonald TO, Gohra H: Transplant Arterial Vasculopathy: Evidence for a Dual Pattern of Endothelial Injury and the Source of Smooth Muscle Cells in Lesions of Intimal Hyperplasia. *J Heart Lung Transplant* (1995) **14**: S 123-36
- (6) Azuma H, Tilney NL: Immune and Nonimmune Mechanisms of Chronic Rejection of Kidney Allografts. *J Heart Lung Transplant* (1995) **14**: S 136-42
- (7) Baldwin WM III, Pruitt SK, Brauer RB, Daha MR, Sanfilippo F: Complement in Organ Transplantation: Contributions to Inflammation, Injury and Rejection. *Transplantation* (1995) **59**: 797-808
- (8) Ballantyne CM, Bassem MM, Clubb FJ jr., Radovancevic B, Smith CW, Hawkins HK, Frazier OH, Willerson JT: Increased expression of ICAM-1. *Tex Heart Inst J* (1996) **23**: 293-5
- (9) Billingham ME, Cary NRB, Hammond ME, Kemnitz J, Marboe C, McCallister HA, Snovar DC, Winters GL, Zerbe A: A Working Formulation for the Standardization of Nomenclature in the Diagnosis of Heart and Lung Rejection: Heart Rejection Study Group. *J Heart Lung Transplant* (1990) **9**: 587-93
- (10) Billingham ME: Cardiac Transplant Atherosclerosis. *Transplant Proc* (1987) **19** (suppl): 19-25
- (11) Billingham ME: Does Intracoronary Ultrasound Conflict with Pathology ? Comments from a Panel Discussion. *J Heart Lung Transplant* (1995) **14**: S 211-4
- (12) Billingham ME: Graft Coronary Disease: The Lesions and the Patients. *Transplant Proc* (1989) **21**: 3665-6
- (13) Billingham ME: Pathology of Graft Vascular Disease After Heart and Heart-Lung Transplantation and its Relationship to Obliterative Bronchiolitis. *Transplant Proc* (1995) **27**: 2013-6
- (14) Blum A, Aravot D: Heart Transplantation – An Update. *Clin Cardiol* (1996) **19**: 930-8
- (15) Bucher O, Wartenberg H (Hrsg.): *Zytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen* - 11. vollständig überarbeitete Auflage -. Huber (1989): 328-45
- (16) Castellet JJ, Addonizio ML, Rosenberg R, Karnovsky MJ: Cultured Endothelial Cells Produce a Heparin-like Inhibitor of Smooth Muscle Cell Growth. *J Cell Biol* (1981) **90**: 372
- (17) Castellet JJ, Rosenberg R, Karnovsky MJ: Endothelium, Heparin and the Regulation of Vascular Smooth Muscle Cell Growth. In: Jaffe EA (Hrsg.): *Biology of Endothelial Cells*. Martin-Nijhoff, Boston, (1984)
- (18) Clausell N, Butany J, Molossi S, Lonn E, Gladstone P, Rabinovitch M, Daly PA: Abnormalities in Intramyocardial Arteries detected in Cardiac Transplant Biopsy Specimens and Lack of Correlation With Abnormal Intracoronary Ultrasound or Endothelial Dysfunction in Large Epicardial Coronary Arteries. *J Am Coll Cardiol* (1995) **26**: 100-9
- (19) Clowes AW, Clowes MM: Inhibition of Smooth Muscle Cell Proliferation by Heparin Molecules. *Transplant Proc* (1989) **21**: 3700-1
- (20) Costanzo MR: The Role of Histoincompatibility in Cardiac Allograft Vasculopathy. *J Heart Lung Transplant* (1995) **14**: S 180-4

- (21) Costanzo MR, Naftel DC, Pritzker MR, Hellman JK, Boehmer JP, Brozena SC, Dec WG, Ventura HO, Kirklin JK, Bourge RC, Miller LW: Heart Transplant Coronary Artery Disease detected by Angiography: a Multi-Institutional Study (abstract). *J Heart Lung Transplant* (1996) **15**: S 39
- (22) Crisp SJ, Dunn MJ, Rose ML, Barbir M, Yacoub MH: Antiendothelial Antibodies After Heart Transplantation: The Accelerating Factor in Transplant-Associated Coronary Artery Disease ? *J Heart Lung Transplant* (1994) **13**: 81-91
- (23) Day JD, Rayburn BK, Gaudin PB, Baldwin WM, Lowenstein CJ, Kasper EK, Baughman KL, Baumgartner WA, Hutchins GM, Hruban RH: Cardiac Allograft Vasculopathy: The Central Pathogenetic Role of Ischemia-induced Endothelial Cell Injury. *J Heart Lung Transplant* (1995) **14**: S 142-9
- (24) Demetris AJ, Zerbe T, Banner B: Morphology of Solid Organ Allograft Arteriopathy: Identification of Proliferating Intimal Cell populations. *Transplant Proc* (1989) **21**: 3667-9
- (25) Desmouliere A, Geinoz A, Gabbiani F, Gabbiani G: Transforming Growth Factor-beta 1 Induces Alpha Smooth Muscle Actin Expression in Granulation Tissue Myofibroblasts and in Quiescent and Growing Cultured Fibroblasts. *J Cell Biol* (1993) **122**: 103-11
- (26) Dilley RJ, McGeachie JK, Prendergats FJ: A review of the proliferative behaviour, morphology and phenotypes of vascular smooth muscle. *Atherosclerosis* (1987) **63**: 99-107
- (27) Dittrich HC, Shabetai R: Myocardial Biopsy - Techniques, Indications, and Complications. In: Peterson KL, Nicod P (Hrsg.): *Cardiac Catheterization-Methods, Diagnosis, and Therapy*. W.B. Saunders Company (1997), Philadelphia: 266-72
- (28) Dong C, Wilson JE, Winters GL, McManus BM: Human Transplant Coronary Artery Disease: Pathological Evidence for Fas-mediated Apoptotic Cytotoxicity in Allograft Arteriopathy. *Lab Invest* (1996) **74**: 921-31
- (29) Dressler FA, Miller LW: Necropsy versus Angiography: How Accurate is Angiography ? *J Heart Lung Transplant* (1992) **11**: S 56-9
- (30) Dunn MJ, Crisp SJ, Rose ML, Taylor PM, Yacoub MH: Anti-Endothelial Antibodies and Coronary Artery Disease after Cardiac Transplantation. *Lancet* (1992) **339**: 1566-70
- (31) Fabian J, Krykorka P, Urbanova D, Lojda Z: Clinical Value of Endomyocardial Biopsy. *Cor et Vasa* (1984) **26**: 46-55
- (32) Faulk WP, Labarrere CA, Nelson DR, Pitts D: Coronary Artery Disease in Cardiac Allografts: Association With Arterial Antithrombin. *Transplant Proc* (1995) **27**: 1944-6
- (33) Faulk WP, Labarrere CA, Nelson DR, Pitts D: Hemostasis, Fibrinolysis, and Natural Anticoagulation in Transplant Vascular Sclerosis. *J Heart Lung Transplant* (1995) **14**: S 158-64
- (34) Fetzer F-P: Immunhistologisch-morphometrische Untersuchungen zur Proliferationstendenz des Myokards nach Herztransplantation unter besonderer Berücksichtigung der Abstoßungsepisoden. Promotionsarbeit, Humboldt-Universität zu Berlin, Charité (1997)
- (35) Fetzer R, Meyer R, Kaufmann O, Hetzer R: Immunohistological-morphometric Examinations to the Expression of Adhesion Molecules and Angiogenic Growth Factors on Myocardium after Heart Transplantation with Special Consideration to Acute Rejection Episodes. *Pathol Res Pract* (1997) **193**: 89
- (36) Gallo P, Baroldi G, Thiene L, Agozzino L, Arbustini E, Bartoloni G, Bonacina E, Bosman C, Catani G, Cocco P, di Gioia C, Motta T, Pucci A, Rocco M: When and why do heart transplant recipients die ? A 7 year experience of 1068 cardiac transplants. *Virchows Archiv A Pathol Anat* (1993) **422**: 453-8
- (37) Gao SZ, Alderman EL, Schroeder JS, Silverman JF, Hunt SA: Accelerated Coronary Vascular Disease in the Heart Transplant Patient: Coronary Angiographic Findings. *J Am Coll Cardiol* (1988) **12**: 334-40
- (38) Gao SZ, Hunt SA, Alderman EL, Liang D, Yeung AC, Schroeder JS: Relation of Donor Age and Preexisting Coronary Artery Disease on Angiography and Intracoronary Ultrasound to Later Development of Accelerated Allograft Coronary Artery Disease. *J Am Coll Cardiol* (1997) **29**: 623-9

- (39) Gao SZ, Johnson DE, Schroeder JS, Alderman EL, Billingham ME, Hunt SA, Stinson EB: Transplant Coronary Artery Disease: Histopathologic Correlations With Angiographic Morphology. *J Am Coll Cradiol* (1988) **11**: 153 A (abstract)
- (40) Gao SZ, Schroeder JS, Hunt S, Stinson EB: Retransplantation for Severe Accelerated Coronary Artery Disease in Heart Transplant Recipients. *Am J Cardiol* (1988) **62**: 876-81
- (41) Gayle L, Winters MD: The Pathology of Heart Allograft Rejection. *Arch Pathol Lab Med* (1991) **115**: 266-72
- (42) Gheissari A, Yokoyama T, Hendel J, Capouya E, Fuentes J, Jimenez P: Diltiazem Prevents Accelerated Graft Coronary Artery Disease in Heart Transplant Recipients. *Transplant Proc* (1995) **27**: 2625-7
- (43) Gibbons GH: The Pathogenesis of Graft Vascular Disease: Implications of Vascular Remodeling. *J Heart Lung Transplant* (1995) **14**: S 149-58
- (44) Gregory CR, Huang X, Pratt RE, Dzau VJ, Shorthouse R, Billingham ME, Morris RE: Treatment with Rapamycin and Mycophenolic Acid Reduces Arterial Intimal Thickening Produced by Mechanical Injury and Allows Endothelial Replacement. *Transplantation* (1995) **59**: 655-61
- (45) Hammond EH, Yowell RL, Nunoda S, Menlove RL, Renlund DG, Bristow MR, Gay WA, Jones KW, O'Connell JB: Vascular (Humoral) Rejection in Heart Transplantation: Pathologic Observations and Clinical Implications. *J Heart Lung Transplant* (1989) **8**: 430-43
- (46) Hammond EH, Yowell RL: Ultrastructural Findings in Cardiac Transplant Recipients. *Ultrastruc Pathol* (1994) **18**: 213-20
- (47) Hauptmann PJ, Nakagawa T, Tanaka H, Libby P: Acute Rejection: Culprit or Coincidence in the Pathogenesis of Cardiac Graft Vascular Disease ? *J Heart Lung Transplant* (1995) **14**: S 173-80
- (48) Hauptmann PJ, Davis SF, Miller L, Yeung AC: The Role of Nonimmune Risk Factors in the Development and Progression of Graft Arteriosclerosis: Preliminary Insights from a Multicenter Intravascular Ultrasound Study. *J Heart Lung Transplant* (1995) **14**: S 238-42
- (49) Herold G und Mitarbeiter (Hrsg.): *Innere Medizin, Eine Vorlesungsorientierte Darstellung*. Gerd Herold, August-Haas-Straße 43, 50737 Köln: 178
- (50) Hisatomi K, Isomura T, Ohashi M, Tamehiro K, Sato T, Tayama E, Ohishi K, Kohjiro M: Effect of Dose of Cyclosporine or FK 506 and Antithrombotic Agents on Cardiac Allograft Vascular Disease in Heterotopically Transplanted Hearts in Rats. *J Heart Lung Transplant* (1995) **14**: 113-7
- (51) Hosenpud JD, Morris TE, Shipley GD, Mauck KA, Wagner CA: Cardiac Allograft Vasculopathy – Preferential Regulation of Endothelial Cell-derived Mesenchymal Growth Factors in Response to a Donor-specific Cell-mediated Allogeneic Response. *Transplantation* (1996) **61**: 939-48
- (52) Hosenpud JD, Shipley GD, Mauck KA, Morris TE, Wagner CR: Temporal Reduction in Acute Rejection after Heart Transplantation is not Associated with a Reduction in Cell-mediated Responses to Donor-specific Vascular Endothelium. *J Heart Lung Transplant* (1995) **14**: 926-37
- (53) Hosenpud JD, Shipley GD, Wagner CR: Cardiac Allograft Vasculopathy: Current Concepts, Recent Developments, and Future Directions. *J Heart Lung Transplant* (1992) **11**: 9-23
- (54) Hruban RH, Beschoner WE, Baumgartner WA, Augustine SM, Ren H, Reitz BA, Hutchins GM: Accelerated Arteriosclerosis in Heart Transplant Recipients is Associated with a T-Lymphocyte-mediated Endothelialitis. *Am J Pathol* (1990) **137**: 871-82
- (55) Johnson DE, Alderman EL, Schroeder JS, Silverman JF, Hunt SA, De Campli WM, Stinson EB, Billingham M: Transplant Coronary Artery Disease: Histopathological Correlations with Angiographic Morphology. *J Am Coll Cardiol* (1991) **17**: 449-57
- (56) Johnson DE, Gao SZ, Schroeder JS, DeCampli WM, Billingham ME: The Spectrum of Coronary Artery Pathologic Findings in Human Cardiac Allografts. *J Heart Transplant* (1989) **8**: 349-59
- (57) Johnson JA, Kobashiwaga JA: Quantitative Analysis of Transplant Coronary Artery Disease with Use of Intravascular Ultrasound. *J Heart Lung Transplant* (1995) **14**: S 198-202

- (58) Klauss V, Ackermann K, Spes CH, Zeitlmann T, Henneke KH, Werner F, Regar E, Überfuhr P, Theisen K, Mudra H: Coronary Plaque Morphologic Characteristics Early and Late after Heart Transplantation: In vivo Analysis with Intravascular Ultrasonography. *Am Heart J* (1997) **133**: 29-35
- (59) Klauss V, Mudra H, Überfuhr P, Theisen K: Intraindividual Variability of Cardiac Allograft Vasculopathy as Assessed by Intravascular Ultrasound. *Am J Cardiol* (1995) **76**: 463-6
- (60) Kobashiwaga JA, Miller L, Yeung A, Hauptman P, Ventura H, Wilensky R, Valentine H, Wiedermann J, Sandoz/ CVIS Investigators: Does Acute Rejection Correlate with the Development of Transplant Coronary Artery Disease ? A Multicenter Study Using Intravascular Ultrasound. *J Heart Lung Transplant* (1995) **14**: S 221-6
- (61) Koskinen PK, Krogerus LA, Nieminen MS, Mattila SP, Häyry PJ, Lautenschlager IT: Quantitation of Cytomegalovirus Infection-associated Histologic Findings in Endomyocardial Biopsies of Heart Allografts. *J Heart Lung Transplant* (1993) **12**: 343-54
- (62) Labarerre CA, Pitts D, Nelson DR, Faulk WP: Coronary Artery Disease in Cardiac Allografts: Association With Arteriolar Endothelial HLA-DR and ICAM-1 Antigens. *Transplant Proc* (1995) **27**: 1939-40
- (63) Leibovich SJ, Polverini PJ, Shepard HM, Wiseman DM, Shively V, Nuseir N: Macrophage-induced Angiogenesis is Mediated by Tumor Necrosis Factor-alpha. *Nature* (1987) **329**: 630-2
- (64) Liang DH, Gao SZ, Botas J, Pinto FJ, Schroeder JS, Alderman EL, Yeung AC: Prediction of Angiographic Disease by Intracoronary Ultrasonographic Findings in Heart Transplant Recipients. *J Heart Lung Transplant* (1996) **15**: 980-7
- (65) Libby P, Tanaka H: The Pathogenesis of Coronary Arteriosclerosis („Chronic Rejection“) in Transplanted Hearts. *Clin Transplantation* (1994) **8**: 313-8
- (66) Lin H, Wilson JE, Kendall TJ, Radio SJ, Cornhill FJ, Herderick E, Winters GL, Costanzo MR, Porter T, Thiesen SL: Comparable Proximal and Distal Severity of Intimal Thickening and Size of Epicardial Coronary Arteries in Transplant Arteriopathy of Human Cardiac Allografts. *J Heart Lung Transplant* (1994) **13**: 824-33
- (67) Linden MD, Torres FX, Kubus J, Zarbo RJ: Clinical Application of Morphologic and Immunocytochemical Assessments of Cell Proliferation. *Am J Clin Pathol* (1992) **97** (suppl 1): 4-13
- (68) Liu G, Butany J: Morphology of Graft Arteriosclerosis in Cardiac Transplant Recipients. *Hum Pathol* (1992) **23**: 768-73
- (69) Loebe M, Schüler S, Zais O, Warnecke H, Fleck E, Hetzer R: Role of Cytomegalovirus Infection in the Development of Coronary Artery Disease in the Transplanted Heart. *J Heart Lung Transplant* (1990) **9**: 707-11
- (70) Mangiavacchi M, Frigerio M, Gronda E, Danzi GB, Bonacina E, Masciocco G, Olivia F, De Vita C, Pellegrini A: Acute Rejection and Cytomegalovirus Infection: Correlation With Cardiac Allograft Vasculopathy. *Transplant Proc* (1995) **27**: 1960-2
- (71) March RJ, Guynn T: Cardiac Allograft Vasculopathy: The Potential Role for Transmyocardial Laser Revascularisation. *J Heart Lung Transplant* (1995) **14**: S 242-6
- (72) McCarthy PM, Billingham Margaret E, Flavin TF, Hunt Sharon A, Stinson EB: Immunosuppression and Rejection. In: Smith JA, McCarthy PM, Sarris GE, Stinson EB, Reitz BA (Hrsg.): *The Stanford Manual of Cardiopulmonary Transplantation*, Futura Publishing Co. (1996), Inc., Armonk, New York: 99-125
- (73) McQuinn TC, Schwartz RJ: Vascular Smooth Muscle-Specific Gene Expression. In: Schwartz SM, Mecham RP (Hrsg.): *The Vascular Smooth Muscle Cell*. Academic Press (1995), Inc., San Diego, Kalifornien: 213-8
- (74) Mehra M, Ventura HO, Smart FW, Stapleton DD: Impact of Converting Enzyme Inhibitors and Calcium Entry Blockers on Cardiac Allograft Vasculopathy: From Bench to Bedside. *J Heart Lung Transplant* (1995) **14**: S 246-9
- (75) Mehra MR, Ventura HO, Stapleton DD, Smart FW: The Prognostic Significance of Intimal Proliferation in Cardiac Allograft Vasculopathy: A Paradigm Shift. *J Heart Lung Transplant* (1995) **14**: S 207-11

- (76) Meiser BM, Wenke K, Thiery J, Brandl U, Mair H, Kur F, Detter C, Überfuhr P, Kreuzer E, Seidel D, Reichart B: Prevention and Treatment of Graft Vessel Disease After Heart Transplantation. *Transplant Proc* (1995) **27**: 1931-5
- (77) Meiser BM, Billingham ME, Morris RE: Effects of Cyclosporine, FK 506, and Rapamycin on Graft-Vessel Disease. *Lancet* (1991) **338**: 1297-8
- (78) Miller LW: Long-term Complications of Cardiac Transplantation. *Prog Cardiovasc Dis* (1991) **33**: 229-82
- (79) Molossi S, Clausell N, Rabinovitch M: Coronary Artery Endothelial Interleukin-1 β mediates enhanced Fibronectin Production related to Post-Cardiac Transplant Arteriopathy in Piglets. *Circulation* (1993) **88**: II 248-56
- (80) Musci M, Loebe M, Siniawski H, Hummel M, Hetzer R: Comparision of Bretschneider Solution (HTKS) and University of Wisconsin Solution (UWS) for Myocardial Preservation in Heart Transplantation: A Clinical Follow-up. *Cardiovasc Surg* (1997) **5** (S 1): 72-3
- (81) Nagamine S, Ohmi M, Tabayashi K, Iguchi A, Mohri H: Effects of Cyclosporine and 15-Deoxyspergualin on Coronary Arteriosclerosis after Heart Transplantation in the Rat. *J Heart Lung Transplant* (1994) **13**: 895-8
- (82) Naish SJ (Hrsg.): Handbuch II immunhistochemischer Färbemethoden. DAKO Corporation (1989), Via Real, CA, USA
- (83) Neish AS, Loh E, Schoen FJ: Myocardial Changes in Cardiac Transplant-Associated Coronary Arteriosclerosis: Potential for Timely Diagnosis. *J Am Coll Cardiol* (1992) **19**: 586-92
- (84) Nora JJ, Cooley DA, Fernbach DJ, Rochelle DG, Milam JD, Montgomery JR, Leachman RD, Butler WT, Rossen RD, Bloodwell RD, Hallman GL, Trentin JJ: Rejection of the Transplanted Human Heart. *N Engl J Med* (1969) **280**: 1079-86
- (85) Olivari MT, Homans DC, Wilson RF, Kubo SII, Ring WS: Coronary Artery Disease in Cardiac Transplant Patients Receiving Triple-drug Immunosuppressive Therapy. *Circulation* (1989) **80** (suppl): III 111-5
- (86) Palmer DC, Tsai CC, Roodman ST, Codd JE, Miller LW, Sarafian JE, Williams GA: Heart Graft Arteriosclerosis – An Ominous Finding on Endomyocardial Biopsy. *Transplantation* (1985) **39**: 385-8
- (87) Pflugfelder PW, Boughner DR, Rudas L, Kostuk WJ: Enhanced Detection of Cardiac Allograft Arterial Disease with Intracoronary Ultrasonographic Imaging. *Am Heart J* (1993) **125**: 1583-91
- (88) Pucci AM, Forbes RDC, Billingham ME: Pathologic Features in Long-Term Cardiac Allografts. *J Heart Lung Transplant* (1990) **9**: 339-45
- (89) Rabinovitch M, Molossi S, Clausell N: Cytokine-mediated Fibronectin Production and Transendothelial Migration of Lymphocytes in the Mechanism of Cardiac Allograft Vascular Disease: Efficacy of Novel Therapeutic Approaches. *J Heart Lung Transplant* (1995) **14**: S 116-23
- (90) Radovancevic B, Poindexter S, Birovljev S, Velebit V, McAllister HA, Duncan JM, Vega D, Lonquist J, Burnett CM, Frazier OH: Risk Factors for Development of Accelerated Coronary Artery Disease in Cardiac Transplant Recipients. *Eur J Cardiothorac Surg* (1990) **4**: 309-12
- (91) Reinhold-Richter L: Quantitativ-morphologische Untersuchungen verschiedener Formen der Herzhypertrophie des Menschen und experimenteller Formen der Herzhypertrophie der Ratte. A-Promotionsarbeit, Humboldt-Universität zu Berlin, Charité (1978)
- (92) Reinsmoen NL, Hertz MI, Kubo SH, Bolman RM, Matas AJ: Reduced Incidence of Chronic Rejection in Cyclosporine-treated Solid Organ Recipients with Donor Antigen-specific Hyporeactivity. *Transplant Proc* (1994) **26**: 2558-9
- (93) Rose AG, Uys CJ, Losman JG, Barnard CN: Evaluation of Endomyocardial Biopsy in the Diagnosis of Cardiac Rejection. A Study Using Biopsy Samples of Formalin-fixed Tissue. *Transplantation* (1978) **26**: 10-3
- (94) Russell ME, Fujita M, Masek MA, Rowan RA, Billingham ME: Cardiac Graft Vascular Disease – Nonselective Involvement of Large and Small Vessels. *Transplantation* (1993) **56**: 1599-1601

- (95) Russell ME: Macrophages and Transplant Arteriosclerosis: Known and Novel Molecules. *J Heart Lung Transplant* (1995) **14**: S 111-5
- (96) Schüler S, Matschke K, Loebe M, Hummel M, Fleck E, Hetzer R: Coronary Artery Disease in Patients with Hearts from Older Donors: Morphologic Features and Therapeutic Implications. *J Heart Lung Transplant* (1993) **12**: 100-9
- (97) Sedmak DD, Orosz CG: The Role of Vascular Endothelial Cells in Transplantation. *Arch Pathol Lab Med* (1991) **115**: 260-5
- (98) Shimokado K, Raines EW, Madtes DK, Barrett TB, Benditt EP, Ross R: A Significant Part of Macrophage-derived Growth Factor Consists of at Least Two Forms of PDGF. *Cell* (1985) **43**: 277-86
- (99) Smart FW, Ballantyne CM, Cocanougher B, Farmer JA, Sekela ME, Noon GP, Young JB: Insensitivity of Noninvasive Tests to Detect Coronary Artery Vasculopathy After Heart Transplantation. *Am J Cardiol* (1991) **67**: 243-7
- (100) Smart FW, Grinstead WC, Cocanougher B, Ballantyne CM, Farmer JA, Kleiman N, Young JB: Detection of Transplant Arteriopathy: Does Exercise Thallium Scintigraphy Improve Noninvasive Diagnostic Capabilities ? *Transplant Proc* (1991) **23**: 1189-92
- (101) St Goar FG, Pinto FJ, Alderman EL, Valentine HA, Schroeder JS, Gao SZ, Stinson EB, Popp RL: Intracoronary ultrasound in cardiac transplant recipients. In vivo evidence of „angiographic silent“ intimal thickening. *Circulation* (1992) **85**: 979-87
- (102) Stempfle HU, Mudra H, Strom C, Angermann CE, Klauss V, Rieber J, Scholz S, Spes C, Überfuhr P, Theisen K: Influence of HLA Compatibility on the Incidence of Cardiac Allograft Vasculopathy After Heart Transplantation. *Transplant Proc* (1995) **27**: 1977-8
- (103) Tanaka H, Swanson SJ, Sukhova G, Schoen FJ, Libby P: Early Proliferation of Medial Smooth Muscle Cells in Coronary Arteries of Rabbit Cardiac Allografts During Immunosuppression With Cyclosporine A. *Transplant Proc* (1995) **27**: 2062-5
- (104) Tanaka H, Sukhova GK, Swanson SJ, Cybulsky MI, Schoen FJ, Libby P: Endothelial and Smooth Muscle Cells Express Leukocyte Adhesion Molecules Heterogeneously During Acute Rejection of Rabbit Cardiac Allografts. *Am J Pathol* (1994) **144**: 938-51
- (105) Tanio JW, Basu CB, Albelda SM, Eisen HJ: Differential Expression of Cell Adhesion Molecules ICAM-1, VCAM-1, and E-Selectin in normal and posttransplantation myocardium. *Cell Adhesion Molecule Expression in Human Cardiac Allografts*. *Circulation* (1994) **89**: 1760-8
- (106) Thomson JG: Heart Transplantation in Man – Necropsy Findings. *Br Med J* (1968) **2**: 511-7
- (107) Tuzcu EM, De Franco AC, Hobbs R, Rincon G, Bott-Silverman C, McCardhy P, Stewart R, Nissen SE: Prevalence and Distribution of Transplant Coronary Artery Disease: Insights from Intravascular Ultrasound. *J Heart Lung Transplant* (1995) **14**: S 202-7
- (108) Uretsky BF, Murali S, Reddy PS, Rabin B, Lee A, Griffith BP, Hardesty RL, Trento A, Bahnson HT: Development of Coronary Artery Disease in Cardiac Transplant Patients Receiving Immunosuppressive Therapy with Cyclosporine and Prednisone. *Circulation* (1987) **76**: 827-34
- (109) Valentine H, Pinto FJ, St Goar FG, Alderman EL, Popp RL: Intracoronary Ultrasound Imaging in Heart Transplant Recipients: The Stanford Experience. *J Heart Lung Transplant* (1992) **11**: S 60-64
- (110) Valentine HA: Role of Lipids in Allograft Vascular Disease: a Multicenter Study of Intimal Thickening detected by Intravascular Ultrasound. *J Heart Lung Transplant* (1995) **14**: S 243-7
- (111) Vassalli G, Gallino A: Endothelial dysfunction and accelerated coronary artery disease in cardiac transplant recipients. *Eur Heart J* (1997) **18**: 1712-7
- (112) von Scheidt W, Koglin M, Weis M, Groß T, Meiser BM, Überfuhr P, Reichart B: Epikardiale und Mikrovaskuläre Manifestationen der kardialen Transplantatvaskulopathie (TxV): zwei unterschiedliche Erkrankungen. *Transplantationsmedizin (suppl)* (1996): 28
- (113) Warnecke H, Müller J, Cohnert T, Hummel M, Spiegelsberger S, Siniawski HK, Lieback E, Hetzer R: Clinical Heart Transplantation without Routine Endomyocardial Biopsy. *J Heart Lung Transplant* (1992) **11**: 1093-102
- (114) Weis M, von Scheidt W: Cardiac Allograft Vasculopathy – A Review. *Circulation* (1997) **96**: 2069-77

- (115) Wenke K, Meiser B, Thiery J, Arndtz N, von Scheidt W, Seidel D, Reichart B: Is a Reduction of Graft Vessel Disease by Maximal Treatment of Hypercholesterolemia After Heart Transplantation Possible ? *Transplant Proc* (1995) **27**: 1954-5
- (116) Winters GL, Kendall TJ, Radio SJ, Wilson JE, Costanzo-Nordin MR, Switzer BL, Remmenga JA, McManus BM: Posttransplant Obesity and Hyperlipidemia: Major Predictors of Severity of Coronary Arteriopathy in Failed Human Heart Allografts. *J Heart Lung Transplant* (1990) **9**: 364-71
- (117) Yeung AC, Davis SF, Hauptmann PJ, Kobashiwaga JA, Miller LW, Valantine HA, Ventura HO, Wiedermann J, Wilensky R: Incidence and Progression of Transplant Coronary Artery Disease Over 1 Year: Results of a Multicenter Trial with Use of Intravascular Ultrasound. *J Heart Lung Transplant* (1995) **14**: S 215-20
- (118) Yu CC, Filipe MI: Update on proliferation-associated antibodies applicable to formalin-fixed paraffin-embedded tissue and their clinical applications. *Histochem J* (1993) **25**: 843-53

11. Anlagen

Anlage 1

Biopsieliste: TVP-Gruppe

Monate nach HTx	HTxNr	PräpNr	Datum	Datum HTx	d post HTx	ISHLT	vaskuläre	Reaktion
1	256	2254/ 89	27.10.89	26.09.89	31	0	0	0
2	256	2363/ 89	15.11.89	26.09.89	49	3B	0	0
3	256	2634/ 89	22.12.89	26.09.89	86	3A	1	1
5	256	340/ 90	19.02.90	26.09.89	143	0	1	1
8	256	785/ 90	04.05.90	26.09.89	218	0	1	1
11	256	1508/ 90	21.08.90	26.09.89	325	0	1	1
14	256	2006/ 90	06.11.90	26.09.89	400	0	0	1
1	135	705/88	22.04.88	15.04.88	7	0	1	1
2	135	904/88	31.05.88	15.04.88	46	1B	0	1
3	135	1098/88	05.07.88	15.04.88	81	1B	0	0
5	135	1475/88	06.09.88	15.04.88	144	1A	1	1
8	135	2009/88	29.11.88	15.04.88	228	1A	0	2
11	135	470/89	07.03.89	15.04.88	326	1A	0	0
14	135	1243/89	13.06.89	15.04.88	424	1A	0	1
1	264	2383/ 89	17.11.89	23.10.89	25	3A	1	1
2	264	2609/ 89	21.12.89	23.10.89	59	1A	1	1
3	264	76/ 90	11.01.90	23.10.89	80	1A	0	1
5	264	501/ 90	15.03.90	23.10.89	143	0	1	0
8	264	1072/ 90	18.06.90	23.10.89	238	0	0	0
11	264	1547/ 90	28.08.90	23.10.89	309	0	1	1
14	264	1817/ 90	09.10.90	23.10.89	351	0	0	0
1	169	1618/ 88	29.09.88	29.08.88	31	0	0	1
2	169	1795/ 88	26.10.88	29.08.88	58	0	0	0
3	169	1979/ 88	24.11.88	29.08.88	87	01A*	1	1
5	169	176/ 89	25.01.89	29.08.88	149	0	0	2
8	169	848/ 89	21.04.89	29.08.88	235	0	0	0
11	169	1506/ 89	19.07.89	29.08.88	324	01A*	0	0
1	51	1141/ 87	02.04.87	04.03.87	29	0	0	1
2	51	1266/ 87	28.04.87	04.03.87	55	1A	0	0
3	51	1459/ 87	04.06.87	04.03.87	92	1A	0	0
5	51	1707/ 87	23.07.87	04.03.87	141	1A	0	0
8	51	2301/ 87	29.10.87	04.03.87	239	0	0	1
11	51	88/ 88	14.01.88	04.03.87	316	0	0	1
14	51	607/ 88	07.04.88	04.03.87	400	0	0	2
1	505	1239/ 91	10.12.91	26.11.91	14	0	0	1
2	505	0006/ 92	02.01.92	26.11.91	37	0	1	1
3	505	250/ 92	26.02.92	26.11.91	92	0	0	2
5	505	391/ 92	13.04.92	26.11.91	139	0	0	1
8	505	649/ 92	21.07.92	26.11.91	238	0	1	2
11	505	841/ 92	16.10.92	26.11.91	325	0	0	1

Legende: d = Tage nach HTx

PräpNr = Präparatenummer

* = Ergänzung von Prof. Dr. R. Meyer, Arbeitsgruppe Herzpathologie des Deutschen Herzzentrums Berlin

Fortsetzung Anlage 1

Biopsieliste: TVP-Gruppe

Monate nach HTx	HTxNr	PräpNr	Datum	Datum HTx	d post HTx	ISHLT	vaskuläre	Reaktion
1	153	1264/ 88	04.08.88	08.07.88	27	1A	0	0
2	153	1465/ 88	05.09.88	08.07.88	59	1A	0	0
3	153	1645/ 88	03.10.88	08.07.88	87	3A	0	0
5	153	2052/ 88	05.12.88	08.07.88	150	1A	1	2
8	153	340/ 89	16.02.89	08.07.88	223	01A*	0	0
11	153	1131/ 89	29.05.89	08.07.88	325	01A*	0	0
14	153	1703/ 89	14.08.89	08.07.88	402	0	0	0
1	19	128/86	18.07.86	10.07.86	8	0	0	2
2	19	246/86	18.08.86	10.07.86	39	0	1	2
3	19	369/86	09.10.86	10.07.86	91	1A	1	1
5	19	608/86	02.12.86	10.07.86	145	0	0	1
8	19	1026/87	10.03.87	10.07.86	243	0	0	1
11	19	1375/87	19.05.87	10.07.86	313	0	0	1
1	43	810/ 87	20.01.87	23.12.86	28	0	1	1
2	43	950/ 87	20.02.87	23.12.86	59	01A*	1	2
3	43	1074/ 87	20.03.87	23.12.86	87	3A	1	1
5	43	1348/ 87	14.05.87	23.12.86	142	0	0	0
8	43	1869/ 87	24.08.87	23.12.86	244	1A	0	0
11	43	2397/ 87	16.11.87	23.12.86	328	0	0	0
14	43	205/ 88	01.02.88	23.12.86	405	01A*	0	0
1	1	0001/ 86	05.05.86	18.04.86	17	0	0	0
2	1	16/ 86	12.06.86	18.04.86	55	1A	0	1
3	1	122/ 86	17.07.86	18.04.86	90	1A	1	1
5	1	292/ 86	29.08.86	18.04.86	133	01A*	0	0
8	1	687/ 86	18.12.86	18.04.86	244	3A	0	0
11	1	977/ 87	26.02.87	18.04.86	314	0	1	1
14	1	1473/ 87	09.06.87	18.04.86	417	0	1	0
1	273	2608/89	20.12.89	29.11.89	21	2	0	0
2	273	133/90	22.01.90	29.11.89	54	1A	0	1
3	273	276/90	12.02.90	29.11.89	75	1A	0	2
5	273	624/90	06.04.90	29.11.89	128	1B	1	2
8	273	1267/90	13.07.90	29.11.89	226	1A	0	0
1	363	1900/ 90	29.10.90	03.10.90	26	0	0	0
2	363	2117/90	23.11.90	03.10.90	51	1A	0	1
3	363	2270/90	20.12.90	03.10.90	78	0	0	0
5	363	212/91	15.02.91	03.10.90	135	0	0	2
8	363	510/91	08.05.91	03.10.90	217	1A	0	2

Legende: d = Tage nach HTx

PräpNr = Präparatenummer

* = Ergänzung von Prof. Dr. R. Meyer, Arbeitsgruppe Herzpathologie des Deutschen Herzzentrums Berlin

Fortsetzung Anlage 1

Biopsieliste: TVP-Gruppe

Monate nach HTx	HTxNr	PräpNr	Datum	Datum HTx	d post HTx	ISHLT	vaskuläre	Reaktion
1	67	1554/ 87	23.06.87	24.05.87	30	0	0	1
2	67	1684/ 87	20.07.87	24.05.87	57	1A	0	0
3	67	1867/ 87	24.08.87	24.05.87	92	1A	0	0
5	67	2268/ 87	23.10.87	24.05.87	152	0	0	0
8	67	122/ 88	18.01.88	24.05.87	239	1A	0	1
11	67	586/ 88	05.04.88	24.05.87	317	0	0	1
14	67	1193/ 88	21.07.88	24.05.87	424	3A	0	0
1	97	2279/ 87	26.10.87	26.09.87	30	0	0	1
2	97	2423/ 87	19.11.87	26.09.87	54	0	0	1
3	97	2641/ 87	23.12.87	26.09.87	88	1A	0	1
5	97	320/ 88	19.02.88	26.09.87	146	0	0	2
8	97	810/ 88	13.05.88	26.09.87	230	0	0	0
11	97	1276/ 88	05.08.88	26.09.87	314	0	0	0
14	97	1989/ 88	25.11.88	26.09.87	426	0	1	1
1	268	2497/ 89	05.12.89	05.11.89	30	1A	0	1
2	268	0004/ 90	02.01.90	05.11.89	58	1A	1	1
3	268	230/ 90	05.02.90	05.11.89	92	3A	1	1
5	268	547/ 90	26.03.90	05.11.89	141	1A	0	1
8	268	1279/ 90	16.07.90	05.11.89	253	01A*	1	1
11	268	1711/ 90	24.09.90	05.11.89	323	01A*	0	1
14	268	2211/ 90	10.12.90	05.11.89	400	0	0	0

Legende: d = Tage nach HTx PräpNr = Präparatenummer

* = Ergänzung von Prof. Dr. R. Meyer, Arbeitsgruppe Herzpathologie des Deutschen Herzzentrums Berlin

Anlage 2

Biopsieliste: Kontrollgruppe

Monate nach HTx	HTxNr	PräpNr	Befunddatum	Datum HTx	d post HTx	ISHLT	vaskuläre	Reaktion
1	284	186/ 90	29.01.90	31.12.89	29	0	0	0
2	284	369/ 90	23.02.90	31.12.89	54	01A*	0	2
3	284	568/ 90	29.03.90	31.12.89	88	0	0	0
5	284	948/ 90	29.05.90	31.12.89	149	1A	0	1
8	284	1522/ 90	23.08.90	31.12.89	235	0	0	0
11	284	2104/ 90	22.11.90	31.12.89	326	1A	0	1
14	284	185/ 91	12.02.91	31.12.89	408	0	0	0
1	177	1794/ 88	26.10.88	27.09.88	29	0	0	1
2	177	1987/ 88	24.11.88	27.09.88	58	0	0	0
3	177	2179/ 88	22.12.88	27.09.88	86	0	0	0
5	177	400/ 89	24.02.89	27.09.88	150	0	0	1
8	177	1078/ 89	28.04.89	27.09.88	213	0	0	0
11	177	1688/ 89	11.08.89	27.09.88	318	0	0	1
14	177	2359/ 89	14.11.89	27.09.88	413	0	0	1
1	329	1148/ 90	28.06.90	02.06.90	26	0	0	0
2	329	1389/ 90	31.07.90	02.06.90	59	0	0	0
3	329	1568/ 90	31.08.90	02.06.90	90	1A	0	1
5	329	1952/ 90	29.10.90	02.06.90	149	0	0	0
8	329	145/ 91	01.02.91	02.06.90	244	0	0	2
11	329	419/ 91	12.04.91	02.06.90	314	0	0	0
14	329	736/ 91	19.07.91	02.06.90	412	0	0	1
1	270	2512/ 89	07.12.89	08.11.89	29	3A	0	0
2	270	15/ 90	03.01.90	08.11.89	56	3A	0	2
3	270	255/ 90	08.02.90	08.11.89	92	01A*	0	2
5	270	602/ 90	04.04.90	08.11.89	147	0	0	0
8	270	1180/ 90	03.07.90	08.11.89	237	0	0	0
11	270	1675/ 90	18.09.90	08.11.89	314	0	0	0
1	134	787/ 88	09.05.88	15.04.88	24	1A	0	0
2	134	962/ 88	10.06.88	15.04.88	56	0	0	0
3	134	1122/ 88	11.07.88	15.04.88	87	01A*	0	0
5	134	1513/ 88	12.09.88	15.04.88	150	0	0	0
8	134	2008/ 88	28.11.88	15.04.88	227	0	0	0
11	134	735/ 89	10.03.89	15.04.88	329	0	0	1
14	134	1044/ 89	17.05.89	15.04.88	397	01A*	0	0
1	23	318/ 86	05.09.86	07.08.86	29	0	0	0
2	23	346/ 86	02.10.86	07.08.86	56	0	0	0
3	23	485/ 86	05.11.86	07.08.86	90	0	0	2
5	23	712/ 86	23.12.86	07.08.86	138	0	0	1
8	23	1106/ 87	27.03.87	07.08.86	232	01A*	0	1
11	23	1540/ 87	19.06.87	07.08.86	316	0	0	1

Legende: d = Tage nach HTx PräpNr = Präparatenummer

* = Ergänzung von Prof. Dr. R. Meyer, Arbeitsgruppe Herzpathologie des Deutschen Herzzentrums Berlin

Fortsetzung Anlage 2

Biopsieliste: Kontrollgruppe

Monate nach HTx	HTxNr	PräpNr	Befunddatum	Datum HTx	d post HTx	ISHLT	vaskuläre	Reaktion
1	121	499/ 88	18.03.88	21.02.88	26	0	0	0
2	121	676/ 88	19.04.88	21.02.88	58	2	0	0
3	121	835/ 88	17.05.88	21.02.88	86	0	0	0
5	121	1144/ 88	14.07.88	21.02.88	144	01A*	0	0
8	121	1639/ 88	03.10.88	21.02.88	225	0	0	0
11	121	51/ 89	09.01.89	21.02.88	323	01A*	0	0
7	121	648/ 89	30.03.89	21.02.88	403	0	0	0
1	271	2549/ 89	12.12.89	15.11.89	27	1A	0	0
2	271	50/ 90	09.01.90	15.11.89	55	1A	0	1
3	271	239/ 90	06.02.90	15.11.89	83	3A	0	0
5	271	658/ 90	12.04.90	15.11.89	148	1A	0	0
8	271	1231/ 90	10.07.90	15.11.89	237	0	0	0
11	271	1800/ 90	05.10.90	15.11.89	324	2	0	0
14	271	97/ 91	18.01.91	15.11.89	429	0	0	2
1	585	674/ 92	30.07.92	28.06.92	32	0	0	0
2	585	736/ 92	01.09.92	28.06.92	65	3A	1	2
3	585	792/ 92	28.09.92	28.06.92	92	2	0	0
5	585	897/ 92	10.11.92	28.06.92	135	0	0	0
8	585	94/ 93	11.02.93	28.06.92	228	2	0	0
11	585	269/ 93	04.05.93	28.06.92	310	3A	0	1
1	430	628/ 91	13.06.91	14.05.91	30	0	0	1
2	430	764/ 91	26.07.91	14.05.91	73	1A	1	2
3	430	829/ 91	13.08.91	14.05.91	91	3A	0	2
5	430	972/ 91	24.09.91	14.05.91	133	0	0	2
8	430	22/ 92	06.01.92	14.05.91	237	0	0	0
11	430	475/ 92	12.05.92	14.05.91	364	01A*	0	2
1	300	558/ 90	27.03.90	27.02.90	28	0	0	2
2	300	718/ 90	23.04.90	27.02.90	55	1A	0	1
3	300	849/ 90	14.05.90	27.02.90	76	1A	0	2
5	300	1265/ 90	13.07.90	27.02.90	136	0	0	0
8	300	1754/ 90	01.10.90	27.02.90	216	1A	0	0
11	300	2253/ 90	17.12.90	27.02.90	293	0	0	2
14	300	385/ 91	05.04.91	27.02.90	402	0	0	1
1	91	2094/ 87	25.09.87	28.08.87	28	1A	0	0
2	91	2263/ 87	22.10.87	28.08.87	55	01A*	0	0
3	91	2463/ 87	26.11.87	28.08.87	90	01A*	0	1
5	91	100/ 88	15.01.88	28.08.87	140	0	0	1
8	91	617/ 88	08.04.88	28.08.87	224	0	0	0
11	91	1117/ 88	08.07.88	28.08.87	315	2	0	0
14	91	1864/ 88	04.11.88	28.08.87	434	1A	0	2

Legende: d = Tage nach HTx PräpNr = Präparatenummer

* = Ergänzung von Prof. Dr. R. Meyer, Arbeitsgruppe Herzpathologie des Deutschen Herzzentrums Berlin

Fortsetzung Anlage 2

Biopsieliste: Kontrollgruppe

Monate nach HTx	HTxNr	PräpNr	Befunddatum	Datum HTx	d post HTx	ISHLT	vaskuläre	Reaktion
1	241	1752/ 89	18.08.89	21.07.89	28	0	0	0
2	241	2006/ 89	21.09.89	21.07.89	62	1A	0	1
3	241	2192/ 89	19.10.89	21.07.89	90	0	0	2
5	241	2545/ 89	11.12.89	21.07.89	143	0	0	0
8	241	449/ 90	08.03.90	21.07.89	230	0	0	0
11	241	970/ 90	31.05.90	21.07.89	314	0	0	1
14	241	1601/ 90	06.09.90	21.07.89	412	0	0	0
1	86	1960/ 87	07.09.87	07.08.87	31	1A	0	0
2	86	2162/ 87	06.10.87	07.08.87	60	1A	0	1
3	86	2327/ 87	02.11.87	07.08.87	87	0	0	2
5	86	39/ 88	07.01.88	07.08.87	153	1B	1	1
8	86	498/ 88	18.03.88	07.08.87	224	1A	0	1
11	86	1101/ 88	05.07.88	07.08.87	333	1A	0	0
1	481	951/ 91	19.09.91	08.09.91	11	0	0	0
2	481	1077/ 91	21.10.91	08.09.91	43	0	0	0
3	481	1258/ 91	13.12.91	08.09.91	96	2	0	0
5	481	143/ 92	28.01.92	08.09.91	142	1B	0	1
8	481	494/ 92	19.05.92	08.09.91	254	1A	0	1
11	481	558/ 92	15.06.92	08.09.91	281	1A	0	1
14	481	846/ 92	19.10.92	08.09.91	407	1A	0	0
1	27	384/ 86	13.10.86	19.09.86	24	0	0	2
2	27	541/ 86	17.11.86	19.09.86	59	0	0	0
3	27	663/ 86	15.12.86	19.09.86	87	0	0	1
5	27	901/ 87	09.02.87	19.09.86	143	0	0	0
8	27	1389/ 87	21.05.87	19.09.86	244	0	0	1
11	27	1768/ 87	04.08.87	19.09.86	319	0	0	1
14	27	2369/ 87	10.11.87	19.09.86	417	0	0	0
1	64	1463/ 87	05.06.87	11.05.87	25	0	1	1
2	64	1643/ 87	10.07.87	11.05.87	60	1A	1	1
3	64	1813/ 87	12.08.87	11.05.87	93	1A	0	2
5	64	2102/ 87	28.09.87	11.05.87	140	1A	0	0
8	64	67/ 88	11.01.88	11.05.87	245	0	0	0
11	64	454/ 88	14.03.88	11.05.87	308	01A*	0	0
1	175	1758/ 88	20.10.88	23.09.88	27	01A*	0	0
2	175	1944/ 88	18.11.88	23.09.88	56	0	0	1
3	175	2173/ 88	22.12.88	23.09.88	90	0	0	0
5	175	390/ 89	23.02.89	23.09.88	153	0	0	0
8	175	1063/ 89	18.05.89	23.09.88	237	0	0	0
11	175	1775/ 89	23.08.89	23.09.88	334	0	0	0
14	175	2414/ 89	23.11.89	23.09.88	426	1A	1	1

Legend: d = Tage nach HTx PräpNr = Präparatenummer

* = Ergänzung von Prof. Dr. R. Meyer, Arbeitsgruppe Herzpathologie des Deutschen Herzzentrums Berlin

Fortsetzung Anlage 2

Biopsieliste: Kontrollgruppe

Monate nach HTx	HTxNr	PräpNr	Befunddatum	Datum HTx	d post HTx	ISHLT	vaskuläre	Reaktion
1	29	464/ 86	30.10.86	02.10.86	28	0	0	0
2	29	614/ 86	02.12.86	02.10.86	61	0	0	1
3	29	706/ 86	23.12.86	02.10.86	82	0	0	0
5	29	987/ 87	02.03.87	02.10.86	151	3A	0	0
8	29	1406/ 87	26.05.87	02.10.86	236	2	1	1
11	29	1926/ 87	01.09.87	02.10.86	334	1A	0	1
1	72	1659/ 87	14.07.87	19.06.87	25	0	0	1
2	72	1828/ 87	17.08.87	19.06.87	59	1A	0	0
3	72	2010/ 87	14.09.87	19.06.87	87	0	0	0
5	72	2355/ 87	06.11.87	19.06.87	140	0	0	1
8	72	291/ 88	15.02.88	19.06.87	241	1A	0	0
11	72	829/ 88	16.05.88	19.06.87	332	0	0	0
14	72	1285/ 88	08.08.88	19.06.87	416	0	0	2
1	41	754/ 87	08.01.87	10.12.86	29	3A	0	1
2	41	903/ 87	09.02.87	10.12.86	61	0	0	1
3	41	1021/ 87	09.03.87	10.12.86	89	0	0	2
5	41	1289/ 87	04.05.87	10.12.86	145	1A	0	1
8	41	1792/ 87	10.08.87	10.12.86	243	1A	0	1
11	41	2359/ 87	09.11.87	10.12.86	334	3A	0	0
14	41	201/ 88	01.02.88	10.12.86	418	3A	0	0
1	131	747/ 88	02.05.88	06.04.88	26	0	0	0
2	131	935/ 88	06.06.88	06.04.88	61	1A	0	0
3	131	1086/ 88	04.07.88	06.04.88	89	01A*	0	0
5	131	1468/ 88	06.09.88	06.04.88	153	0	0	0
8	131	1920/ 88	14.11.88	06.04.88	222	1A	0	0
11	131	358/ 89	17.02.89	06.04.88	317	0	0	0
14	131	1071/ 89	19.05.89	06.04.88	408	0	0	0
1	286	203/ 90	30.01.90	03.01.90	27	01A*	0	0
2	286	401/ 90	01.03.90	03.01.90	57	01A*	0	0
3	286	567/ 90	29.03.90	03.01.90	85	1A	1	2
5	286	962/ 90	31.05.90	03.01.90	148	0	0	0
8	286	1444/ 90	09.08.90	03.01.90	218	0	0	1
11	286	1989/ 90	02.11.90	03.01.90	303	0	0	1
1	148	1140/ 88	12.07.88	13.06.88	29	0	0	0
2	148	1309/ 88	12.08.88	13.06.88	60	1A	0	1
3	148	1486/ 88	08.09.88	13.06.88	87	0	0	1
5	148	1821/ 88	31.10.88	13.06.88	140	0	0	0
8	148	158/ 89	23.01.89	13.06.88	224	0	0	0
11	148	964/ 89	08.05.89	13.06.88	329	0	0	2
14	148	1716/ 89	15.08.89	13.06.88	428	0	0	2

Legend: d = Tage nach HTx PräpNr = Präparatenummer

* = Ergänzung von Prof. Dr. R. Meyer, Arbeitsgruppe Herzpathologie des Deutschen Herzzentrums Berlin

Fortsetzung Anlage 2

Biopsieliste: Kontrollgruppe

Monate nach HTx	HTxNr	PräpNr	Befunddatum	Datum HTx	d post HTx	ISHLT	vaskuläre	Reaktion
1	139	912/ 88	01.06.88	03.05.88	29	0	0	0
2	139	1060/ 88	28.06.88	03.05.88	56	0	0	0
3	139	1224/ 88	26.07.88	03.05.88	84	0	0	0
5	139	1614/ 88	29.09.88	03.05.88	149	3A	1	0
8	139	73/ 89	11.01.89	03.05.88	253	0	0	0
11	139	491/ 89	09.03.89	03.05.88	310	0	0	0
14	139	1271/ 89	16.06.89	03.05.88	409	0	0	0
1	160	1406/ 88	29.08.88	31.07.88	29	0	0	2
2	160	1591/ 88	26.09.88	31.07.88	57	0	0	1
3	160	1777/ 88	24.10.88	31.07.88	85	1A	0	0
5	160	2192/ 88	27.12.88	31.07.88	149	3A	0	1
8	160	571/ 89	20.03.89	31.07.88	232	1A	0	0
11	160	1380/ 89	30.06.89	31.07.88	334	0	0	0
14	160	1917/ 89	08.09.89	31.07.88	404	0	0	0

Legende: d = Tage nach HTx PräpNr = Präparatenummer

Anlage 3

Demographische Daten: TVP-Gruppe

HTxNr	Alter bei HTx/ Jahre	m/ w	HTx-Indikation	Alter bei RTx/ Jahre	Indikation	N/ Gef.	ED	ED-HTx/ Monate	Alter bei Exitus/ Jahre
256*	45	m	KHK	keine RTx	entfällt	3	05.07.95	70	51
135*	45	m	dKMP	keine RTx	entfällt	3	11.02.92	47	53
264	49	m	dKMP	keine RTx	entfällt	1	14.04.92	30	52
169	67	w	dKMP	keine RTx	entfällt	1	28.05.91	33	68
51	60	m	dKMP	keine RTx	entfällt	1	12.06.87	3	68
505	34	m	Eisenmenger	keine RTx	entfällt	3	05.05.94	30	37
153	53	m	KHK	keine RTx	entfällt	2	17.10.88	3	58
19*	45	m	KHK	54	TVP	3 (RTx)	16.10.86	3	54
43	51	m	KHK	keine RTx	entfällt	1	09.05.89	29	54
1	43	m	dKMP	48	TVP	1	29.04.87	13	50
273*	38	w	dKMP	keine RTx	entfällt	3	14.06.91	19	41
363*	51	m	dKMP	52	ak. Rej.	1	17.12.90	3	52
67	51	w	dKMP	keine RTx	entfällt	1	24.02.92	58	56
97	53	m	KHK	keine RTx	entfällt	2	07.03.88	5	58
268	50	w	dKMP	keine RTx	entfällt	2	11.03.91	16	54

Legende: ak. Rej. = akute Rejektion
 CA = Karzinom
 dKMP = dilatative Kardiomyopathie
 ED = Erstdiagnose
 KHK = koronare Herzkrankheit
 N/ Gef. = Anzahl der betroffenen Gefäße
 RTx = Retransplantation
 TVP = Transplantatvaskulopathie
 * = Sektion

Fortsetzung Anlage 3

Demographische Daten: TVP-Gruppe

HTxNr	Todesursache	Überlebenszeit/ Monate	Ischämiezeit/ min	Reperfusionszeit/ min	CMV	HLA-A	HLA-B	HLA-C	HLA-DR
256*	kard. Versagen	71	150	unbekannt	unbek.	2, 9, 24	5, 51, w4	w1	2, Q1
135*	biventr. Herzversagen	94	155	97	pos	1, 11	27, 35, w4, w6	w2,w4	1, q1
264	TVP	36	182	67	neg	2, 19, 33	14,40,61,w6	unbek.	4, 5, 11, 52, 53, Q3
169	unbekannt	13	110	69	neg	2, 9, 23	8, 12, 44, w4, w6	w7	3, 7
51	Malignom	95	159	47	n.d.	unbekannt	unbekannt	unbek.	unbekannt
505	Infektion/ Sepsis	34	245	186	neg	2, 28	51	w4,w5	w11,w13,qw1,qw7,w52
153	sonstige	60	180	57	neg	2	18, 27	w1,w5	2,3
19*	hypovolämisches HKV	98	unbekannt	55	pos	19, 32, 28	18, 27, w4, w6	w2	4, 52, 53, Q1, Q3
43	unbekannt	38	120	40	pos	2, 19, 32	8, 12, 44, w4, w6	unbek.	3, w9, w52, w53, 2, w3
1	TVP	95	130	36	pos	2, 9, 24	5,51,12,45,w4,w6,	w1,w6	1, 5, 11, 52
273*	biventr. Herzversagen	40	195	unbekannt	unbek.	unbekannt	unbekannt	unbek.	unbekannt
363*	Aspergillensepsis	12	131	unbekannt	neg	2	17, 27, w4	w2	4, 7, q2, q3
67	unbekannt	62	150	38	pos	unbekannt	unbekannt	unbek.	7, w53, Qw2
97	TVP	66	192	67	neg	unbekannt	unbekannt	unbek.	unbekannt
268	TVP	49	176	unbekannt	unbek.	1, 19, 32	8, 12, 44, w4, w6	w5,w7	1, 8

Legende: biventr. = biventrikulär TVP = Transplantatvaskulopathie
 CMV = Zytomegalievirusstatus unbek. = unbekannt
 HKV = Herzkreislaufversagen * = Sektion
 HLA = Human-Leukocyte-Antigen
 kard. = kardial
 min = Minuten
 neg = negativ
 n.d. = nicht getestet
 pos = positiv

Anlage 3 a

Spenderinformationen: TVP-Gruppe

HTxNr	S-Alter/ Jahre	S-m/w	Todesursache	S-CMV	S-HLA-A	S-HLA-B	S-HLA-C	S-HLA-DR
256	50	m	SHT	pos	2,10 (25)	12 (44), 40 (60), w4, w6	w3,w5	unbekannt
135	46	m	Schädeltrauma	pos	1,11	7,8	w7	3,w13
264	31	m	SHT	pos	unbekannt	unbekannt	unbekannt	unbekannt
169	46	w	SAB	pos	2,26(10)	38(16),44,12	unbekannt	2,w6
51	14	w	SHT	unbek.	3	7,18	unbekannt	7,w9
505	30	m	subdurales Hämatom / SHT	neg	unbekannt	unbekannt	unbekannt	unbekannt
153	40	m	ICB	pos	25,28	18,27,w4,w6	w1	2,4,qw1,qw2,w53
19	46	m	cerebrale Blutung	unbek.	2,28	44,w62	unbekannt	4,w11
43	unbek.	unbek.	Carotisaneurysma	unbek.	11,30(19)	18,w56(22),w6	w6	1,7
1	19	m	Insulinintoxikation	unbek.	24,30	13,w70,w4,w6,w3	w6	w13,w7
273	40	m	ICB	neg	2,3	7,40	w3,w7	2,3,q1,q2
363	48	m	SHT / subdurales Hämatom	neg	1,19,30	8,13,w4,w6	w6,w7	3,5,11,52,Q2,Q3
67	unbek.	w	SHT	unbek.	unbekannt	unbekannt	unbekannt	unbekannt
97	36	m	Schädeltrauma	unbek.	unbekannt	unbekannt	unbekannt	unbekannt
268	37	w	unbekannt	pos	3,11	7,35	unbekannt	1,2

Legende: AV = arteriovenös SAB = Subarachnoidalblutung
 CMV = Zytomegalievirusstatus SHT = Schädel - Hirn - Trauma
 HLA = Human-Leukocyte-Antigen unbek. = unbekannt
 ICB = intrakranielle Blutung
 neg = negativ
 pos = positiv

Anlage 4

Demographische Daten: Kontrollgruppe

HTxNr	Alter bei HTx/ Jahre	m/w	HTx-Indikation	Alter bei Exitus/ Jahre	Todesursache	Überlebenszeit/ Monate	Ischämiezeit/ min	Reperfusionszeit/ min
284	52	m	dKMP	56	Colon Ca	48	75	42
177	55	m	KHK	61	unbekannt	77	175	unbekannt
329	38	m	dKMP	41	Bronchial Ca	35	150	79
270	47	m	KHK	49	Abstoßung	24	160	unbekannt
134	31	m	dKMP	35	unbekannt	55	160	unbekannt
23	45	m	KHK	52	Bronchial Ca	90	100	23
121	39	m	dKMP	45	unbekannt	77	350	unbekannt
271	52	w	dKMP	56	unbekannt	45	133	unbekannt
585	51	m	dKMP	55	Infektion/Sepsis	46	unbekannt	unbekannt
430*	56	m	dKMP	57	Myokardinfarkt	13	unbekannt	unbekannt
300	48	m	dKMP	50	unbekannt	25	unbekannt	unbekannt
91	44	m	KHK	48	Ösophagus Ca	45	90	38
241*	52	m	dKMP	59	Bronchial Ca	84	89	unbekannt
86	32	m	KHK	39	unbekannt	86	150	unbekannt
481	47	w	dKMP	49	Aortenaneurysma	27	unbekannt	unbekannt
27	43	w	KHK	52	Multiorganversagen	109	165	unbekannt
64	59	m	KHK	64	Aortenaneurysma	67	unbekannt	unbekannt
175	53	m	dKMP	59	unbekannt	73	140	unbekannt
29	52	m	dKMP	58	Lungenversagen	72	180	unbekannt
72	43	m	KHK	52	Pleuramesotheliom	111	70	unbekannt
41	48	m	dKMP	51	Infektion/Sepsis	37	195	unbekannt
131	41	w	KHK	43	Myokardinfarkt	24	130	unbekannt
286	48	m	dKMP	53	Suizid	64	unbekannt	unbekannt
148	65	w	dKMP	69	Hämorrhagie	49	135	unbekannt
139	46	m	dKMP	53	Myokardinfarkt	83	195	unbekannt
160	45	m	dKMP	51	Bronchial Ca	75	150	44

Legende: Ca = Karzinom min = Minuten
dKMP = dilatative Kardiomyopathie * = Sektion
KHK = koronare Herzkrankheit

Fortsetzung Anlage 4

Demographische Daten: Kontrollgruppe

HTxNr	CMV	HLA-A	HLA-B	HLA-C	HLA-DR
284	neg	2	51, w62, w4, w6	w2, w3	1, w11, w1, 3, w52
177	neg	23, 30	13, 18	w6, w7	7, w11
329	n.d.	10, 25, 28, 68	68, 12, 44, 27, w4	w1	5, 11, 52, Q3
270	unbek.	1, w19, 32	7, 8, w6	w7	2, 3, w52, Qw1, Qw2
134	neg	2, 19, 30	13, 40, 60, w4, w6	w3	2, 7, 53, q1, q2
23	neg	3	15, w62, 35, w6	w3, w4	1, 7, 53, Qw1, Qw2
121	neg	23, 9	17, 44, w4	w4	7, qw2, w53
271	unbek.	25, 32	18, 63	unbek.	unbekannt
585	unbek.	2, 3	12,44,15,62,w4,w6	w2, w3	6, 13, 52, q1
430*	unbek.	unbekannt	unbekannt	unbek.	unbekannt
300	unbek.	1, 2	44, 57	unbek.	3, 13
91	neg	unbekannt	unbekannt	unbek.	1, 4, w53, Qw1, Qw3
241*	unbek.	3, 19, 30	18, 40, 60, w6	w3	1, 3, 52, q1, q2
86	neg	unbekannt	unbekannt	unbek.	5,w11,7,w52,w53,Qw2,Qw3
481	unbek.	unbekannt	unbekannt	unbek.	unbekannt
27	pos	3, 19, 29	7, 12, 44, w4, w6	w7	7, 53, Q2
64	neg	unbekannt	unbekannt	unbek.	4, w52, QW3
175	pos	9, 24, 19, 31	7, 40, w6	w1, w7	2, 5, 11
29	pos	unbekannt	unbekannt	unbek.	unbekannt
72	pos	2, 3	15, w62, w6	w3	w8, w9, w52, w53
41	n.d.	1, 2	12, 44, w4, w6	unbek.	3, 4, 52, Q2, Q3
131	neg	2, 9, 24	w5,w52,w70,w4,w6	w1-8	2, 3, w52, qw1, qw2
286	unbek.	2, 25	7	unbek.	2
148	neg	2, 3	27, 35, w4, w6	w2, w4	1, w5, w11, w52, qw1, qw3
139	neg	9, 10, 23, 26	12, 27, 44, w4	w1, w4	1, 2, Q3
160	neg	3, 9, 23	12, 44, w4	w4	w6, w10, qw1, w52

Legende:

CMV	= Zytomegalievirusstatus	pos	= positiv
HLA	= Human-Leukocyte-Antigen	unbek.	= unbekannt
Neg	= negativ	*	= Sektion
n.d.	= nicht getestet		

Anlage 4 a

Spenderinformationen: Kontrollgruppe

HTxNr	S-Alter/ Jahre	S-m/w	Todesursache	S-CMV	S-HLA-A	S-HLA-B	S-HLA-C	S-HLA-DR
284	41	m	SHT	unbek.	unbekannt	unbekannt	unbekannt	unbekannt
177	28	m	SHT III° / malignes Hämatom	neg	2,3	5,51,13,w4	w6	7,qw2,w53
329	25	m	SHT / SAB	neg	unbekannt	unbekannt	unbekannt	unbekannt
270	47	w	cerebrale Massenblutung	neg	24(3),26(10)	34,41	unbekannt	11(5), 7
134	48	m	SHT	pos	1,2	8,21(50)	unbekannt	w6,w7,3,5(12)
23	26	m	SHT	unbek.	11,28	27,w56(22),w4,w6	w1,w3	1,w6
121	43	m	Carotisaneurysma	neg	1,2	w50,w57	w4,w6	7,w12,w53,w53,qw2
271	51	m	SAB mit Ventrikeleinbruch	neg	1,30	8,13	w6,w7	3,7,q2
585	31	m	A. meningea media Infarkt	unbek.	9,24,11	7,35,w6	w4,w7	1,2,15,Q1,Q5,Q6
430	36	m	SHT	pos	unbekannt	unbekannt	unbekannt	unbekannt
300	41	m	SHT	pos	2	12(44), 22(56)	w1,w5	unbekannt
91	37	m	SHT / SAB	pos	2	51(5),7	unbekannt	5
241	25	m	SHT / ICB	neg	2,w33(19)	35,38(16)	unbekannt	w6,7
86	27	w	V.a. Meningitis	pos	1,9,24	8,18	unbekannt	2,8
481	35	w	SAB	pos	1	8.12.44.w4.w6	w5.w7	3.7.52.53.Q2
27	48	w	Suizid	unbek.	1,9	51,5	w4	w6
64	16	m	SHT durch Motorradunfall	unbek.	unbekannt	unbekannt	unbekannt	unbekannt
175	54	w	SAB	neg	1	8,w6	unbekannt	3,w9,w52,w53,qw2,qw3
29	47	unbek.	unbekannt	unbek.	unbekannt	unbekannt	unbekannt	unbekannt
72	46	m	SHT	neg	2,3	13,35,w4,w6	w6	4,7,Qw2,Qw3,w53
41	unbekannt	unbek.	SHT	unbek.	unbekannt	unbekannt	unbekannt	unbekannt
131	46	w	SHT	pos	30(19)	13,39,w4,w6	w2,w6	w13,w4,5,w52
286	23	m	SAB mit Ventrikeleinbruch	neg	3,w19	5,7	unbekannt	w6,7
148	21	w	SHT	neg	1,30	8,13	w6,w7	3,7
139	46	m	cerebrale Massenblutung	pos	1,2	8,12(44)	w5	3,w52,qw2
160	37	m	SHT	neg	2,3	5(51),18	unbekannt	7,8,qw2,qw3

Legende: CMV = Zytomegalievirusstatus
 HLA = Human-Leukocyte-Antigen
 ICB = intrakranielle Blutung

SAB = Subarachnoidalblutung
 SHT = Schädel - Hirn - Trauma
 unbek. = unbekannt

V. a. = Verdacht auf

Anlage 5

Tripelimmunsuppression: TVP-Gruppe

HTxNr	angestrebte Cyclosporin A - Vollblutspiegel	Azathioprin: angestrebte Lymphozyten(LZ)-werte	Prednisolon: Dosierung/ Tag
256	1.-6. Mo. 600-800 ng/ ml dann 400-600 ng/ ml	nach peripheren LZ $4-5 \cdot 10^3/\mu\text{l}$	0,15 mg/ kg KG
135	1.-6. Mo. 600-800 ng/ ml dann 400-600 ng/ ml	nach peripheren LZ $4-5 \cdot 10^3/\mu\text{l}$	0,15 mg/ kg KG
264	1.-6. Mo. 600-800 ng/ ml dann 400-600 ng/ ml	nach peripheren LZ $4-5 \cdot 10^3/\mu\text{l}$	0,15 mg/ kg KG
169	1.-3. Mo. 200 ng/ ml dann 100 ng/ ml	nach peripheren LZ $4-5 \cdot 10^3/\mu\text{l}$	0,15 mg/ kg KG
51	1.-6. Mo. 600-800 ng/ ml dann 400-600 ng/ ml	nach peripheren LZ $4-5 \cdot 10^3/\mu\text{l}$	0,15 mg/ kg KG
505	1.-3. Mo. 300-350ng/ ml dann 200-300ng/ ml	nach peripheren LZ $4-5 \cdot 10^3/\mu\text{l}$	0,15 mg/ kg KG
153	1.-3. Mo. 200 ng/ ml dann 100 ng/ ml	nach peripheren LZ $4-5 \cdot 10^3/\mu\text{l}$	0,15 mg/ kg KG
19	1.-3. Mo. 200 ng/ ml dann 100 ng/ ml	nach peripheren LZ $4-5 \cdot 10^3/\mu\text{l}$	0,15 mg/ kg KG
43	500 - 700 ng/ ml	nach peripheren LZ $4-5 \cdot 10^3/\mu\text{l}$	0,15 mg/ kg KG
1	1.-6. Mo. 600-800 ng/ ml dann 400-600 ng/ ml	nach peripheren LZ $4-5 \cdot 10^3/\mu\text{l}$	0,15 mg/ kg KG
273	1.-6. Mo. 600-800 ng/ ml dann 400-600 ng/ ml	nach peripheren LZ $4-5 \cdot 10^3/\mu\text{l}$	0,15 mg/ kg KG
363	1.-6. Mo. 600-800 ng/ ml dann 400-600 ng/ ml	nach peripheren LZ $4-5 \cdot 10^3/\mu\text{l}$	0,15 mg/ kg KG
67	1.-6. Mo. 600-800 ng/ ml dann 400-600 ng/ ml	nach peripheren LZ $4-5 \cdot 10^3/\mu\text{l}$	0,15 mg/ kg KG
97	1.-6. Mo. 600-800 ng/ ml dann 400-600 ng/ ml	nach peripheren LZ $4-5 \cdot 10^3/\mu\text{l}$	0,15 mg/ kg KG
268	1.-6. Mo. 600-800 ng/ ml dann 400-600 ng/ ml	nach peripheren LZ $4-5 \cdot 10^3/\mu\text{l}$	0,15 mg/ kg KG

Legende: KG = Körpergewicht
LZ = Lymphozyten
Mo. = Monat

Anlage 6

Tripelimmunsuppression: Kontrollgruppe

HTxNr	angestrebte Cyclosporin A - Vollblutspiegel	Azathioprin: angestrebte Lymphozyten(LZ)-werte	Prednisolon: Dosierung/ Tag
284	1.-6. Mo. 600-800 ng/ ml dann 400-600 ng/ ml	nach peripheren LZ 4-5* 10 ³ /µl	0,15 mg/ kg KG
177	1.-6. Mo. 600-800 ng/ ml dann 400-600 ng/ ml	nach peripheren LZ 4-5* 10 ³ /µl	0,15 mg/ kg KG
329	1.-6. Mo. 600-800 ng/ ml dann 400-600 ng/ ml	nach peripheren LZ 4-5* 10 ³ /µl	0,15 mg/ kg KG
270	1.-6. Mo. 600-800 ng/ ml dann 400-600 ng/ ml	nach peripheren LZ 4-5* 10 ³ /µl	0,15 mg/ kg KG
134	1.-6. Mo. 600-800 ng/ ml dann 400-600 ng/ ml	nach peripheren LZ 4-5* 10 ³ /µl	0,15 mg/ kg KG
23	unbekannt	nach peripheren LZ 4-5* 10 ³ /µl	0,15 mg/ kg KG
121	1.-6. Mo. 600-800 ng/ ml dann 400-600 ng/ ml	nach peripheren LZ 4-5* 10 ³ /µl	0,15 mg/ kg KG
271	unbekannt	nach peripheren LZ 4-5* 10 ³ /µl	0,15 mg/ kg KG
585	1.-6. Mo. 300-350 ng/ ml dann 200-300 ng/ ml	nach peripheren LZ 4-5* 10 ³ /µl	0,15 mg/ kg KG
430	1.-6. Mo. 300-350 ng/ ml dann 200-300 ng/ ml	nach peripheren LZ 4-5* 10 ³ /µl	0,15 mg/ kg KG
300	1.-6. Mo. 600-800 ng/ ml dann 400-600 ng/ ml	nach peripheren LZ 4-5* 10 ³ /µl	0,15 mg/ kg KG
91	1.-6. Mo. 600-800 ng/ ml dann 400-600 ng/ ml	nach peripheren LZ 4-5* 10 ³ /µl	0,15 mg/ kg KG
241	1.-6. Mo. 600-800 ng/ ml dann 400-600 ng/ ml	nach peripheren LZ 4-5* 10 ³ /µl	0,15 mg/ kg KG
86	unbekannt	unbekannt	unbekannt
481	1.-6. Mo. 300-350 ng/ ml dann 200-300 ng/ ml	nach peripheren LZ 4-5* 10 ³ /µl	0,15 mg/ kg KG
27	unbekannt	unbekannt	unbekannt
64	1.-6. Mo. 600-800 ng/ ml dann 400-600 ng/ ml	nach peripheren LZ 4-5* 10 ³ /µl	0,15 mg/ kg KG
175	1.-3. Mo. 200 ng/ ml dann 100 ng/ ml	nach peripheren LZ 4-5* 10 ³ /µl	0,15 mg/ kg KG
29	500-700 ng/ ml	nach peripheren LZ 4-5* 10 ³ /µl	0,15 mg/ kg KG
72	1.-6. Mo. 300-350 ng/ ml dann 200-300 ng/ ml	nach peripheren LZ 4-5* 10 ³ /µl	0,15 mg/ kg KG
41	500-700 ng/ ml	nach peripheren LZ 4-5* 10 ³ /µl	0,15 mg/ kg KG
131	350-450 ng/ ml	nach peripheren LZ 4-5* 10 ³ /µl	0,15 mg/ kg KG
286	1.-6. Mo. 600-800 ng/ ml dann 400-600 ng/ ml	nach peripheren LZ 4-5* 10 ³ /µl	0,15 mg/ kg KG
148	unbekannt	unbekannt	unbekannt
139	1.-3. Mo. 200 ng/ ml dann 100 ng/ ml	nach peripheren LZ 4-5* 10 ³ /µl	0,15 mg/ kg KG
160	1.-3. Mo. 200 ng/ ml dann 100 ng/ ml	nach peripheren LZ 4-5* 10 ³ /µl	0,15 mg/ kg KG

Legende: KG = Körpergewicht LZ = Lymphozyten

Mo. = Monat

Hiermit möchte ich Herrn Prof. Dr. sc. med. R. Meyer für die Bereitstellung des Themas und die großzügige Unterstützung bei der Erarbeitung dieser Dissertation herzlich danken. Er war mir ein Doktorvater im besten Sinne des Wortes.

Mein Dank gilt weiterhin den technischen Mitarbeiterinnen des Arbeitsbereichs Herzpathologie im Deutschen Herzzentrum Berlin, Frau Fricke, Frau Thomann und Frau Czerlinski, für deren Unterstützung, sowie Frau Dr. Schneider für die vielen wertvollen Hinweise bei der statistischen Bearbeitung der Untersuchungsergebnisse. Herrn Dr. E. Wellnhofer möchte ich meinen Dank aussprechen, der mir bei der Durchsicht des Manuskriptes ein kritischer Gesprächspartner war, sowie

Ebenso möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. R. Hetzer für seine wohlwollende Kenntnisnahme, die Möglichkeit der Nutzung des Untersuchungsmaterials und die Bereitstellung eines Laborarbeitsplatzes bedanken.

Berlin, März 1998

* * *

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, daß die vorliegende Arbeit von mir selbständig angefertigt und ausschließlich die angegebenen Hilfsmittel und Literaturquellen benutzt wurden.

.....

Nicola E. Hiemann

* * *

Lebenslauf

Name: Nicola Erika Hiemann
Wohnort: Lehrter Straße 42, 10557 Berlin
Geburtsdatum: 25. Juli 1973
Geburtsort: Berlin-Hermsdorf
Eltern: Dipl.-Kfm. Wilhelm Günter Hiemann
Waltraut Ingeborg Hiemann, geb. Wagstyl
Familienstand: ledig

Schulausbildung:

Grundschule: Katholische Schule Salvator, 1980 – 1986 in Berlin
Oberschule: Katholische Schule Salvator, 1980 – 1993 in Berlin
Gymnasiale Oberstufe: Katholische Schule Salvator, 1991 – 1993 in Berlin
Abitur: Katholische Schule Salvator, 03. Juni 1993

Berufsausbildung:

Studium der Humanmedizin
an der Medizinischen Fakultät
der Humboldt-Universität zu
Berlin (Charité): Beginn im Wintersemester 1993/ 1994
Ärztliche Vorprüfung: 18. September 1995
Erster Abschnitt der
Ärztlichen Prüfung: 23. September 1996
Wintersemester 1997/ 1998: Studentin im 5. Klinischen Semester (9. Fachsemester)

Berlin, März 1998

.....

Nicola E. Hiemann